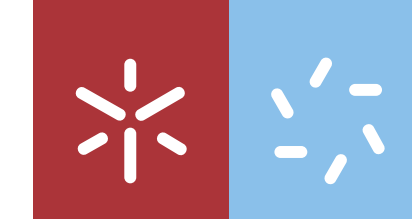




**A reação de salicilaldeído com compostos  
de metileno ativado: caraterização de  
produtos e estudos de reatividade**

Diogo Alexandre Vilaça Lopes

**Universidade do Minho**  
Escola de Ciências







**Universidade do Minho**  
Escola de Ciências

Diogo Alexandre Vilaça Lopes

**A reação de salicilaldeído com compostos de  
metileno ativado: caracterização de produtos e  
estudos de reatividade**

Dissertação de Mestrado

Mestrado em Química Medicinal

Trabalho efetuado sob a orientação de:

Doutora Maria Fernanda Proença

Doutora Marta Sílvia Costa

Outubro de 2018

## DECLARAÇÃO

Nome: Diogo Alexandre Vilaça Lopes

Endereço eletrónico: diogoavl1994@gmail.com      Telefone: 916852557

Cartão do Cidadão: 14596954

Título da dissertação: A reação de salicilaldeído com compostos de metileno ativado: caraterização de produtos e estudos de reatividade

Orientadores:

Doutora Maria Fernanda Proença

Doutora Marta Silvia Costa

Ano de conclusão: 2018

Mestrado em Química Medicinal

DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Universidade do Minho, 11/12/2018

Assinatura: Diogo Alexandre Vilaça Lopes

## AGRADECIMENTOS

Ao concluir o trabalho de mestrado, não posso deixar de agradecer a algumas pessoas que, direta ou indiretamente, foram essenciais e me prestaram auxílio nesta importante etapa.

Em primeiro lugar, quero agradecer, à minha orientadora, Doutora Maria Fernanda Proença, pelo trabalho que teve, por todo o apoio e disponibilidade prestada e por todos os conhecimentos transmitidos durante a realização do meu trabalho. Foi, sem dúvida, uma satisfação enorme poder trabalhar ao seu lado.

À Doutora Marta Sílvia Costa, um grande obrigado, pela ajuda e disponibilidade mostrada sempre que necessária.

À Doutora Elisa e Vânia, que sempre se mostraram disponíveis e que trabalharam com o intuito de me ajudar com a caracterização dos compostos.

Aos meus pais, agradeço por me terem possibilitado todas as condições para ter chegado até aqui. Por toda a paciência e por todo o apoio psicológico e monetário. Pela motivação que sempre me transmitiram para ultrapassar todos os obstáculos que foram surgindo e por sempre acreditarem nas minhas capacidades.

Ao meu irmão, que apesar de todas as brigas, sempre esteve presente e me ajudou a ultrapassar as dificuldades, transmitindo-me força e alento quando mais precisei.

À minha namorada, por estar ao meu lado em todos os momentos, por todo o amor, paciência, apoio e motivação que me deu neste percurso.

Ao David, à Joana e à Rita, pela enorme amizade criada durante este percurso académico, por todo o apoio e disponibilidade mostrada e também por todos os momentos divertidos que tornaram este percurso mais fácil.

E não menos importantes, ao Diogo, ao Jorge e ao Ricardo, os meus amigos de sempre, que estiveram presentes nos momentos difíceis e que fizeram com que os meus dias fossem melhores.

Muito obrigado!



## RESUMO

O trabalho realizado focou-se na síntese de uma família de 2-iminocromenos, usados como precursores de compostos tricíclicos fundidos. A síntese de 2-iminocromenos baseou-se numa abordagem simples, que envolveu a reação de salicilaldeídos com compostos de metileno ativado, num único passo. O uso malononitrilo, seguindo uma metodologia sintética análoga ao procedimento anteriormente otimizado para a reação com cianoacetato de etilo, não permitiu gerar o produto pretendido, formando-se misturas reacionais complexas. O uso do dímero de malononitrilo (2-amino-1,1,3-tricianopropeno) aliado à realização destas reações em banho de gelo permitiu obter os 2-(amino(2-imino-2*H*-cromeno-3-il)metileno) malononitrilos pretendidos, puros e com rendimentos elevados. Foram isoladas e caracterizadas 9 novas moléculas com esta estrutura-base.

Estes produtos foram posteriormente usados para preparar estruturas tricíclicas, numa outra abordagem de síntese simples e que envolveu a ciclização intramolecular na presença de aminas secundárias ou malononitrilo. Este processo de ciclização foi acompanhado por ataque nucleofílico por parte da amina ou do composto de metileno ativado na posição 4 do 2-iminocromeno de partida. Isolaram-se 21 novas estruturas de 2,4-diamino-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo.

Por fim, e na expectativa de síntese de uma estrutura tetracíclica, foi estudada a reatividade do 2,4-diamino-9-metil-5-(4-metilpiperaz-1-il)-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo face à dimetilformamida dietil acetal (DMFDEA). Obteve-se o produto formilado com seletividade para uma das funções amina, mas com baixos rendimentos. A possibilidade de síntese deste composto deixa em aberto o trabalho futuro de otimização das condições de reação que permitam a síntese do composto tetracíclico por adição de aminas primárias.

Todos os produtos obtidos neste trabalho foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho e por RMN de próton e carbono, incluindo o recurso a técnicas bidimensionais (HMBC e HMQC). Alguns dos compostos preparados foram submetidos para testes de atividade anticancerígena em linhas celulares do cancro da mama em colaboração com a Escola de Medicina da UMinho e foi possível identificar estruturas particularmente promissoras para as quais prosseguem os estudos de atividade biológica.





## ABSTRACT

The work focused on the synthesis of a family of 2-iminocromenes, used as precursors of fused tricyclic compounds. The synthesis of 2-iminocromenes was based on a simple approach, which involved the reaction of salicylaldehydes with activated methylene compounds, in a single step. The use of malononitrile, following a synthetic methodology analogous to the procedure previously optimized for the reaction with ethyl cyanoacetate, did not allow the formation of the desired product, leading to complex reaction mixtures. The use of the malononitrile dimer (2-amino-1,1,3-tricianopropene) associated with the use of an ice bath, generated 2-(amino (2-imino-2H-chromen-3-yl) methylene)malononitrile, pure and in high yields. Nine new molecules with this base structure were isolated and characterized.

These products were subsequently used to prepare tricyclic structures, by another simple synthetic approach which involved intramolecular cyclization in the presence of secondary amines or malononitrile. This cyclization process was accompanied by nucleophilic attack by the amine or the active methylene compound to the 4-position of the 2-iminocromene. Twenty one new structures of 2,4-diamino-5*H*-chromene[2,3-*b*] pyridine-3-carbonitrile were isolated and characterized.

Finally, studies on the reaction of 2,4-diamino-9-methyl-5-(4-methylpiperaz-1-yl)-5*H*-chromeno[2,3-*b*]pyridine-3-carbonitrile with dimethylformamide diethyl acetal (DMFDEA) were initiated, aiming at the synthesis of a tetracyclic structure. The formylated product was obtained selectively on one of the amine functions, but in low yield. The possibility to prepare this compound opens up future work in the optimization of the reaction conditions that will allow the synthesis of the tetracyclic compound after addition of primary amines.

All the products were characterized by infrared spectroscopy and proton and carbon NMR, including the use of bidimensional techniques (HMBC and HMQC). Some of the compounds prepared were tested for their anticancer activity in breast cancer cell lines in collaboration with UMinho Medical School and it was possible to identify particularly promising structures and proceed with the biological activity studies.



# ÍNDICE

Agradecimentos.....	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vii
Índice de esquemas .....	xi
Índice de tabelas .....	xiii
Índice de figuras.....	xv
Lista de abreviaturas e símbolos .....	xvii
Capítulo 1 - Introdução .....	1
1.1 Cromenos e a sua importância .....	3
1.2 Síntese de derivados de cromeno .....	3
Capítulo 2 - Resultados e discussão .....	11
2.1 Introdução .....	13
2.2 Síntese de derivados de 2-imino-2 <i>H</i> -cromenos .....	15
2.3 Síntese de derivados de 2,4-diamino-5 <i>H</i> -cromeno[2,3- <i>b</i> ]piridina-3-carbonitrilo .....	27
2.4 Outras sínteses .....	44
2.4.1 Síntese de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno .....	44
2.4.1 Síntese do composto carbonílico $\alpha,\beta$ -insaturado .....	47
2.5 Ensaio de atividade biológica .....	51
2.6 Conclusões e trabalho futuro .....	55
Capítulo 3 - Procedimentos experimentais .....	57
3.1 Instrumentação e Reagentes .....	59
3.2 Síntese química.....	60
Síntese de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno 2.5.....	60
Acetilação de salicilaldeídos fenólicos .....	60
Síntese de 2-amino-3-(2-amino-3-(1-amino-2,2-dicianovinil)-8-metoxi-4 <i>H</i> -cromen-4- <i>Il</i> )prop-1-eno-1,1,3-tricarbonitrilo 2.7 .....	61
Síntese de 2-iminocromenos por reação de salicilaldeídos com 2-amino-1,1,3 tricianopropeno... 62	
Síntese de 2,4-diamino-5-etoxi-9-metoxi-5 <i>H</i> -cromeno[2,3- <i>b</i> ]piridina-3-carbonitrilo 2.10 .....	67
Síntese de 2,4-diamino-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5 <i>H</i> -cromeno[2,3- <i>b</i> ]piridina-3-carbonitrilos .....	68

Síntese de 2,4-diamino-9-metoxi-5 <i>H</i> -cromeno[2,3- <i>b</i> ]piridina-3-carbonitrilos 5-substituídos com outras aminas secundárias .....	73
Síntese de 2,4-diamino-5 <i>H</i> -cromeno[2,3- <i>b</i> ]piridina-3-carbonitrilos 5-substituídos com malononitrilo .....	77
Tentativa de síntese <i>N</i> -(4-amino-3-ciano-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5 <i>H</i> -cromeno[2,3- <i>b</i> ]piridin-2-il)- <i>N,N</i> -dimetilformimidamida 2.14.....	78
Síntese de compostos carbonílicos $\alpha,\beta$ -insaturados a partir de salicilaldeídos .....	79
3.3 Estudos biológicos.....	80
Capítulo 4 - Bibliografia .....	83
4.1 Bibliografia.....	85

# ÍNDICE DE ESQUEMAS

<b>ESQUEMA 1.1</b> – REAÇÃO DE SALICILALDEÍDOS COM CIANOACETATO DE ETILO. ADAPTADO DE VOLMAJER ET AL. <sup>[12]</sup> .	4
<b>ESQUEMA 1.2</b> - REAÇÃO DE SALICILALDEÍDO COM 2-CIANOACETAMIDA. ADAPTADO DE G. SCHIEMENZ <sup>[13]</sup> .	4
<b>ESQUEMA 1.3</b> - REAÇÃO DE SALICILALDEÍDO COM MALONONITRILIO EM PIPERIDINA. ADAPTADO DE L. WOODS E J. SAPP <sup>[14]</sup> .	5
<b>ESQUEMA 1.4</b> - REAÇÃO DE SALICILALDEÍDO COM MALONONITRILIO EM ETANOL, NA PRESENÇA DE ACETATO DE AMÔNIO. ADAPTADO DE A. SAKURAI ET AL. <sup>[15]</sup> .	5
<b>ESQUEMA 1.5</b> - REAÇÃO DE SALICILALDEÍDO COM MALONONITRILIO EM ETANOL E PIPERIDINA, NA PRESENÇA DE ÁCIDO ACÉTICO. ADAPTADO DE O'CALLAGHAN ET AL. <sup>[16]</sup> .	5
<b>ESQUEMA 1.6</b> – REAÇÃO DE SÍNTESE DOS ÁCIDOS 2-EXO-2 <i>H</i> -CROMENO-3-CARBONITRILIOS <b>1.5A,C-J</b> . ADAPTADO DE F. FRINGUELLI ET AL. <sup>[17]</sup> .	6
<b>ESQUEMA 1.7</b> – ESTUDO DA REATIVIDADE DE SALICILALDEÍDOS COM MALONONITRILIO. ADAPTADO DE M. COSTA ET AL. <sup>[18]</sup> .	7
<b>ESQUEMA 2.1</b> – REAÇÕES DE SALICILALDEÍDO COM COMPOSTOS DE METILENO ATIVADO GERANDO DERIVADOS DE CROMENO.....	13
<b>ESQUEMA 2.2</b> - REAÇÃO DE SALICILALDEÍDO COM MALONONITRILIO (ENTRADA 1, TABELA 2.1).	15
<b>ESQUEMA 2.3</b> – ANÁLISE RETROSSINTÉTICA DO PRODUTO <b>2.8</b> .	17
<b>ESQUEMA 2.4</b> - REAÇÃO DE <i>O</i> -VANILINA <b>2.1c</b> COM 2-IMINO-1,1,3-TRICIANOPROPENO <b>2.5</b> (TABELA 2.3, ENTRADA 1).	17
<b>ESQUEMA 2.5</b> – REAÇÃO DE <i>O</i> -VANILINA <b>2.1c</b> COM O DÍMERO <b>2.5</b> EM SOLUÇÃO AQUOSA DE Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,05 M, À TEMPERATURA AMBIENTE.	18
<b>ESQUEMA 2.6</b> - REAÇÃO DE <i>O</i> -VANILINA <b>2.1c</b> COM 2-IMINO-1,1,3-TRICIANOPROPENO <b>2.5</b> (ENTRADA 5, TABELA 2.2).	19
<b>ESQUEMA 2.7</b> – REAÇÃO DE 2,5-DIHIIDROXIBENZALDEÍDO COM O 2-IMINO-1,1,3-TRICIANOPROPENO NA PRESENÇA DE DABCO. ..	19
<b>ESQUEMA 2.8</b> – REAÇÃO DE ACETILAÇÃO DOS SALICILALDEÍDOS <b>2.1g</b> E <b>2.1k</b> .	20
<b>ESQUEMA 2.9</b> - REAÇÃO DO ACETATO DE 3-FORMIL-4-HIDROXIFENIL <b>2.1j</b> COM 2-AMINO-1,1,3-TRICIANOPROPENO <b>2.5</b> .	20
<b>ESQUEMA 2.10</b> – REAÇÃO DOS SALICILALDEÍDOS <b>2.1k-m</b> COM 2-AMINO-1,1,3-TRICIANOPROPENO <b>2.5</b> .	22
<b>ESQUEMA 2.11</b> - PROPOSTA MECANÍSTICA PARA A FORMAÇÃO DOS 2-IMINO-2 <i>H</i> -CROMENOS <b>2.8</b> .	22
<b>ESQUEMA 2.12</b> – REAÇÃO DE SÍNTESE DO 2,4-DIAMINO-5-ETOXI-9-METOXI-5 <i>H</i> -CROMENO[2,3- <i>B</i> ]PIRIDINA-3-CARBONITRILIO <b>2.10</b> .	27
<b>ESQUEMA 2.13</b> – SÍNTESE DE 2,4-DIAMINO-9-METOXI-5-(4-METILPIPERAZIN-1-IL)-5 <i>H</i> -CROMENO[2,3- <i>B</i> ]PIRIDINA-3-CARBONITRILIO <b>2.11c</b> .	27
<b>ESQUEMA 2.14</b> – REAÇÃO DE <b>2.8b</b> COM 2 EQ. DE <i>N</i> -METILPIPERAZINA EM THF.	29
<b>ESQUEMA 2.15</b> – SÍNTESE DE 2-(2,4-DIAMINO-3-CIANO-9-METIL-5,10A-DIHIIDRO-4 <i>AH</i> -CROMENO[2,3- <i>B</i> ]PIRIDIN-5-IL)MALONONITRILIO <b>2.13a</b> .	32
<b>ESQUEMA 2.16</b> - SÍNTESE DO 2-(2,4-DIAMINO-3-CIANO-9-METIL-5,10A-DIHIIDRO-4 <i>AH</i> -CROMENO[2,3- <i>B</i> ]PIRIDIN-5-IL)MALONONITRILIO <b>2.13b</b> .	32
<b>ESQUEMA 2.17</b> – PROPOSTA MECANÍSTICA PARA A FORMAÇÃO DOS 2,4-DIAMINO-5 <i>H</i> -CROMENO[2,3- <i>B</i> ]PIRIDINA-3-CARBONITRILIOS 5-SUBSTITUÍDOS <b>2.7</b> , <b>2.10</b> , <b>2.11</b> , <b>2.12</b> E <b>2.13</b> .	35

<b>ESQUEMA 2.18</b> – REAÇÃO DE 2,4-DIAMINO-9-METIL-5-(4-METILPIPERAZIN-1-IL)-5 <i>H</i> -CROMENO[2,3- <i>B</i> ]PIRIDINA-3-CARBONITRILIO 2.11b COM DMFDEA EM DCM, À TEMPERATURA AMBIENTE.....	42
<b>ESQUEMA 2.19</b> – PROPOSTA MECANÍSTICA PARA FORMAÇÃO <i>N'</i> -(4-AMINO-3-CIANO-9-METIL-5-(4-METILPIPERAZIN-1-IL)-5 <i>H</i> - CROMENO[2,3- <i>B</i> ]PIRIDIN-2-IL)- <i>N,N</i> -DIMETILFORMIMIDAMIDA 2.14. ....	42
<b>ESQUEMA 2.20</b> – PROPOSTA MECANÍSTICA PARA A FORMAÇÃO DO 2-AMINO-1,1,3-TRICIANOPROPENO 2.5.....	45
<b>ESQUEMA 2.21</b> – REAÇÃO DE SÍNTESE DA ( <i>E</i> )-4-(2-HIDROXI-3-METOXIFENIL)BUT-3-EN-2-ONA 2.15. ....	47
<b>ESQUEMA 2.22</b> – PROPOSTA MECANÍSTICA PARA A FORMAÇÃO DO ( <i>E</i> )-4-(2-HIDROXI-3-METOXIFENIL)BUT-3-EN-2-ONA 2.15. ....	48
<b>ESQUEMA 2.23</b> - ESQUEMA GERAL DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS. ....	55

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>TABELA 1.1</b> – RENDIMENTOS OBTIDOS NAS REAÇÕES DE SALICILALDEIDOS COM CIANOACETATO DE ETILO EM PIPERIDINA/ETANOL, À TEMPERATURA AMBIENTE <sup>[12]</sup> . ....	4
<b>TABELA 1.2</b> – RENDIMENTOS REPORTADOS PARA A SÍNTESE DE 2-OXO-2 <i>H</i> -CROMENO-3-CARBONITRILOS <b>1.8A,C-J</b> E DOS ÁCIDOS 2-OXO-2 <i>H</i> -CROMENO-3-CARBOXÍLICOS <b>1.5A,C-J</b> . ADAPTADO DE F. FRINGUELLI <i>ET AL.</i> <sup>[17]</sup> . ....	6
<b>TABELA 1.3</b> – REAÇÃO DE SALICILALDEÍDO COM 1 EQ. DE MALONONITRILO. ....	8
<b>TABELA 1.4</b> - REAÇÃO DE SALICILALDEÍDO COM 2 EQ. DE MALONONITRILO. ....	8
<b>TABELA 1.5</b> – REAÇÃO DE SÍNTESE DO 2-OXO-2 <i>H</i> -CROMENO-3-CARBONITRILO <b>1.8</b> . ....	9
<b>TABELA 2.1</b> – CONDIÇÕES REACIONAIS ANTERIORMENTE USADAS NA FORMAÇÃO DOS DERIVADOS DE CROMENO <b>2A-D</b> , TENDO COMO PRECURSOR O SALICILALDEÍDO. ....	14
<b>TABELA 2.2</b> - CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS USADAS NA REAÇÃO DE SALICILALDEÍDO COM MALONONITRILO. ....	16
<b>TABELA 2.3</b> – OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS PARA A REAÇÃO DE <i>O</i> -VANILINA <b>2.1c</b> COM 2-AMINO-1,1,3- TRICIANOPROPENO <b>2.5</b> . ....	18
<b>TABELA 2.4</b> – REAÇÃO DE SALICILALDEÍDOS <b>2.1A-J</b> COM 1 EQ. DE 2-AMINO-1,1,3-TRICIANOPROPENO <b>2.5</b> EM ETANOL/ACETONA E EM BANHO DE GELO. ....	21
<b>TABELA 2.5</b> - DADOS ESPETROSCÓPICOS DE IV (NUJOL/CM <sup>-1</sup> ) PARA OS 2-IMINO-2 <i>H</i> -CROMENOS <b>2.8A-I</b> . ....	23
<b>TABELA 2.6</b> - DADOS ESPETROSCÓPICOS DE <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO-D <sub>6</sub> ) DOS SINAIS CARACTERÍSTICOS PARA OS 2- IMINO-2 <i>H</i> -CROMENOS <b>2.8A-I</b> . ....	24
<b>TABELA 2.7</b> - DADOS ESPETROSCÓPICOS DE <sup>13</sup> C RMN (100 MHz, DMSO-D <sub>6</sub> ) DOS SINAIS CARACTERÍSTICOS PARA OS 2- IMINO-2 <i>H</i> -CROMENOS <b>2.8A-I</b> . ....	25
<b>TABELA 2.8</b> – REAÇÃO DE 2-IMINO-2 <i>H</i> -CROMENOS <b>2.8A-I</b> COM A <i>N</i> -METILPIPERAZINA (5 EQ.) EM ETANOL À TEMPERATURA AMBIENTE. ....	28
<b>TABELA 2.9</b> - REAÇÃO DO 2-(AMINO(2-IMINO-8-METIL-2 <i>H</i> -CROMEN-3-IL)METILENO)MALONONITRILO <b>2.8B</b> COM 2 EQ. DE <i>N</i> -METILPIPERAZINA EM DIFERENTES SOLVENTES. ....	29
<b>TABELA 2.10</b> – SÍNTESE DE ESTRUTURAS TRICÍCLICAS <b>2.12</b> POR REAÇÃO DE <b>2.8c</b> COM 5 EQ. DE OUTRAS AMINAS SECUNDÁRIAS CÍCLICAS EM ETANOL À TEMPERATURA AMBIENTE. ....	30
<b>TABELA 2.11</b> – REAÇÃO DE <b>2.8c</b> COM OUTRAS AMINAS PRIMÁRIAS E SECUNDÁRIAS ACÍCLICAS EM ETANOL À TEMPERATURA AMBIENTE. ....	31
<b>TABELA 2.12</b> – REAÇÃO DE <b>2.8B</b> COM OUTROS COMPOSTOS DE METILENO ATIVADO EM ETANOL. ....	34

<b>TABELA 2.13</b> - DADOS ESPETROSCÓPICOS DE IV (NUJOL/CM <sup>-1</sup> ) PARA OS 2,4-DIAMINO-5H-CROMENO[2,3- <i>β</i> ]PIRIDINA-3-CARBONITRILOS 5-SUBSTITUÍDOS. ....	36
<b>TABELA 2.14</b> – DADOS ESPETROSCÓPICOS DE <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO-D <sub>6</sub> ) DOS SINAIS CARACTERÍSTICOS PARA OS 2,4-DIAMINO-5H-CROMENO[2,3- <i>β</i> ]PIRIDINA-3-CARBONITRILOS 5-SUBSTITUÍDOS <b>2.7, 2.10, 2.11, 2.12 E 2.13.</b> ....	37
<b>TABELA 2.15</b> – DADOS ESPETROSCÓPICOS DE <sup>13</sup> C RMN (100 MHz, DMSO-D <sub>6</sub> ) DOS SINAIS CARACTERÍSTICOS PARA OS 2,4-DIAMINO-5H-CROMENO[2,3- <i>β</i> ]PIRIDINA-3-CARBONITRILOS 5-SUBSTITUÍDOS <b>2.7, 2.10, 2.11, 2.12 E 2.13.</b> ....	39
<b>TABELA 2.16</b> – OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE SÍNTESE DE 2-AMINO-1,1,3-TRICIANOPROPENO <b>2.5.</b> ....	44
<b>TABELA 2.17</b> – <i>SCREENING</i> 1: VIABILIDADE CELULAR PARA A LINHA CELULAR MCF-7 APÓS 72 HORAS DE TRATAMENTO (10 E 30 μM).....	51
<b>TABELA 2.18</b> - <i>SCREENING</i> 2: VIABILIDADE CELULAR PARA A LINHA CELULAR MCF-7 APÓS 72 HORAS DE TRATAMENTO (10 E 30 μM).....	52
<b>TABELA 2.19</b> – <i>SCREENING</i> 3: VIABILIDADE CELULAR PARA A LINHA CELULAR Hs578T APÓS 72 HORAS DE TRATAMENTO (10 E 30 μM).....	52
<b>TABELA 2.20</b> - POTÊNCIA ANTI PROLIFERATIVA PARA OS COMPOSTOS SELECIONADOS NAS LINHAS CELULARES MCF-7 E Hs578T. ....	53



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.1</b> – DIFERENTES DESIGNAÇÕES PARA OS CROMENOS, DEPENDENDO DA POSIÇÃO DE INSATURAÇÃO E DA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DO GRUPO CARBONILO COMO SUBSTITUINTE NO ANEL DE PIRANO. ....	3
<b>FIGURA 2.1</b> – ESTRUTURA DO 2-IMINO-2 <i>H</i> -CROMENO SINTETIZADO ANTERIORMENTE (2.3c) E ESTRUTURA ANÁLOGA QUE PRETENDEMOS PREPARAR NESTE TRABALHO (2.8).....	15
<b>FIGURA 2.2</b> - INTERAÇÕES QUE POSSIBILITAM A ATRIBUIÇÃO DOS PRINCIPAIS SINAIS DE <sup>13</sup> C RMN, POR HMBC.....	26
<b>FIGURA 2.3</b> – ESPETRO DE <sup>1</sup> H E <sup>13</sup> C RMN DO 2-IMINO-2 <i>H</i> -CROMENO 2.8b. ....	26
<b>FIGURA 2.4</b> – ESTRUTURAS DOS COMPOSTOS 2.10 E 2.12j.....	31
<b>FIGURA 2.5</b> – ESTRUTURA DOS COMPOSTOS 2.13 E 2.7.....	33
<b>FIGURA 2.6</b> - INTERAÇÕES QUE POSSIBILITAM A ATRIBUIÇÃO DOS PRINCIPAIS SINAIS DE <sup>13</sup> C RMN, POR HMBC, DOS COMPOSTOS 2.7, 2.10, 2.11, 2.12 E 2.13. ....	38
<b>FIGURA 2.7</b> - ESPETRO DE <sup>1</sup> H E <sup>13</sup> C RMN DO 2,4-DIAMINO-9-METIL-5-(4-METILPIPERAZIN-1-IL)-5 <i>H</i> -CROMENO[2,3-b]PIRIDINA-3-CARBONITRIL 2.11b.....	40
<b>FIGURA 2.8</b> - ESPETRO DE <sup>1</sup> H E <sup>13</sup> C RMN DO 2-(2,4-DIAMINO-3-CIANO-9-METIL-5,10,4-DI-HIDRO-4 <i>H</i> -CROMENO[2,3-b]PIRIDIN-5-IL)MALONONITRIL 2.13a.....	41
<b>FIGURA 2.9</b> - INTERAÇÕES QUE POSSIBILITAM A ATRIBUIÇÃO DOS PRINCIPAIS SINAIS DE <sup>13</sup> C RMN, POR HMBC, DO COMPOSTO 2.14. ....	43
<b>FIGURA 2.10</b> - INTERAÇÕES QUE POSSIBILITAM A ATRIBUIÇÃO DOS PRINCIPAIS SINAIS DE <sup>13</sup> C RMN, POR HMBC.....	46
<b>FIGURA 2.11</b> – ESPETRO DE <sup>1</sup> H E <sup>13</sup> C RMN DO 2-AMINO-1,1,3-TRICIANOPROPENO 2.5.....	47
<b>FIGURA 2.12</b> - INTERAÇÕES QUE POSSIBILITAM A ATRIBUIÇÃO DOS PRINCIPAIS SINAIS DE <sup>13</sup> C RMN, POR HMBC, DO COMPOSTO 2.15. ....	49
<b>FIGURA 2.13</b> – ESPETRO DE <sup>1</sup> H E <sup>13</sup> C RMN DA (E)-4-(2-HIDROXI-3-METOXIFENIL)BUT-3-EN-2-ONA 2.15.....	50
<b>FIGURA 2.14</b> – ESTRUTURA DOS COMPOSTOS COM MELHORES RESULTADOS BIOLÓGICOS NA LINHA CELULAR MCF-7. 56	
<b>FIGURA 2.15</b> - ESTRUTURA DOS COMPOSTOS COM MELHORES RESULTADOS BIOLÓGICOS NA LINHA CELULAR Hs578t. 56	



## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ACN	Acetonitrilo
°C	Graus Celcius
$\Delta$	Refluxo
$\delta$	Desvio químico (expresso em unidades de ppm)
DABCO	1,4-diazobiciclo[2,2,2]octano
DCM	Diclorometano
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetilsulfóxido deuterado
DMFDEA	Dimetilformamida dietil acetal
d	Dupleto (espectro de <sup>1</sup> H RMN)
dd	Dupleto de dupletos (espectro de <sup>1</sup> H RMN)
eq.	Equivalentes
$\eta$	Rendimento
h	Horas
HMBC	Do inglês: <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	Do inglês: <i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>
Hz	Hertz
IC <sub>50</sub>	Concentração do fármaco que induz metade do efeito máximo
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento (expressa em Hertz (Hz))
m	Multiplete (espectro de <sup>1</sup> H RMN)
M	Molar (mol/dm <sup>3</sup> )
$\mu$ M	Micromolar
min	Minutos
mL	Mililitros
mmol	Milimole
$\nu$	Número de onda
p.f.	Ponto de fusão
ppm	Partes por milhão
RMN	Ressonância magnética nuclear
<sup>13</sup> C RMN	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
<sup>1</sup> H RMN	Ressonância magnética nuclear de próton
s	Singleto (espectro de <sup>1</sup> H RMN)
t	Triplete (espectro de <sup>1</sup> H RMN)
t.a.	Temperatura ambiente



# Capítulo 1

---

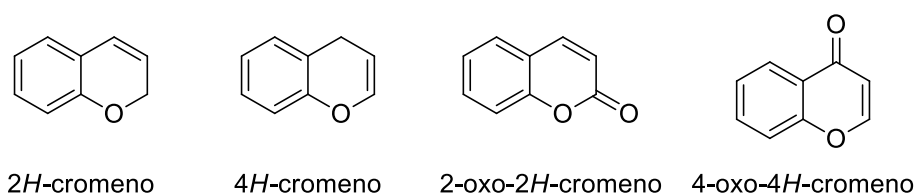
## Introdução



## 1.1 Cromenos e a sua importância

Derivados de cromeno são uma classe importante de compostos, amplamente presentes nas plantas, incluindo vegetais e frutas comestíveis <sup>[1]</sup>. Foram identificados numerosos produtos naturais biologicamente ativos contendo a unidade de cromeno e a presença desta unidade foi associada a capacidade de prevenir doenças <sup>[2]</sup>. Ao longo dos anos, foram desenvolvidos vários análogos sintéticos, alguns deles exibindo propriedades farmacológicas <sup>[3-7]</sup>, incluindo a atividade anticancerígena <sup>[8-10]</sup>.

Dependendo da posição de insaturação, assim como da presença ou ausência do grupo carbonilo como substituinte no anel de pirano, os cromenos podem ter diferentes designações (Figura 1.1) <sup>[11]</sup>.

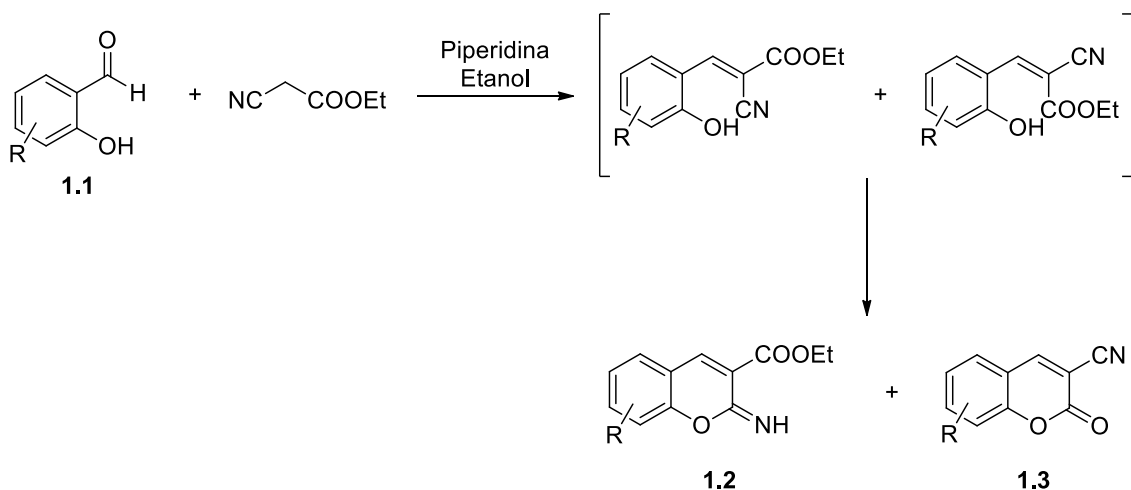


**Figura 1.1** – Diferentes designações para os cromenos, dependendo da posição de insaturação e da presença ou ausência do grupo carbonilo como substituinte no anel de pirano.

## 1.2 Síntese de derivados de cromeno

O método clássico para a síntese de 2-oxo e 2-iminocromenos é a condensação de Knoevenagel de salicilaldeídos com compostos de metileno ativado, seguidos por ciclização intramolecular.

A reação de salicilaldeídos com cianoacetato de etilo foi reportada por Volmajer *et al.* <sup>[12]</sup> na qual, após a condensação de Knoevenagel entre o aldeído e o carbono do grupo metileno, o grupo hidroxilo do intermediário pode atacar o carbono do grupo ciano ou o carbono carbonílico do éster, resultando no 2-imino-2H-cromeno-3-carboxilato de etilo **1.2** ou 2-oxo-2H-cromeno-3-carbonitrilo **1.3**, respectivamente (Esquema 1.1). Segundo os autores, a formação do 2-iminocromeno **1.2** e/ou do 2-oxocromeno **1.3**, depende dos substituintes no anel aromático (Tabela 1.1).

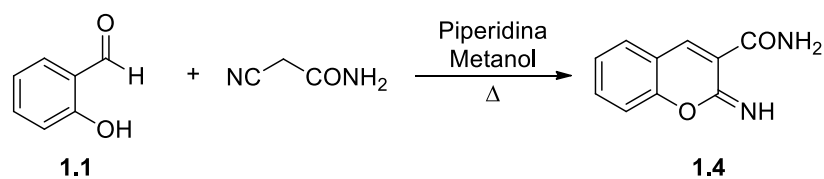


**Esquema 1.1** – Reação de salicilaldeídos com cianoacetato de etilo. Adaptado de Volmajer *et al.* <sup>[12]</sup>.

**Tabela 1.1** – Rendimentos obtidos nas reações de salicilaldeídos com cianoacetato de etilo em piperidina/etanol, à temperatura ambiente <sup>[12]</sup>.

R	2-iminocromeno	2-oxocromeno
6-OH	70%	15%
7-OH	91%	—
8-OH	84%	1%
7-NEt <sub>2</sub>	—	89%
7-OCH <sub>3</sub>	—	85%

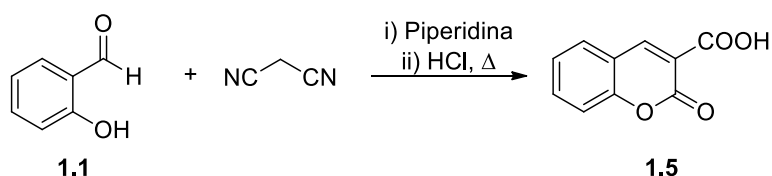
A reação de salicilaldeído com 2-cianoacetamida, realizada em metanol e piperidina, sob refluxo durante 3 dias, para gerar o 2-imino-2H-cromeno-3-carboxamida **1.4** foi reportada por G. Schiemenz <sup>[13]</sup>. O produto foi isolando com um rendimento de 58% (Esquema 1.2).



**Esquema 1.2** - Reação de salicilaldeído com 2-cianoacetamida. Adaptado de G. Schiemenz <sup>[13]</sup>.

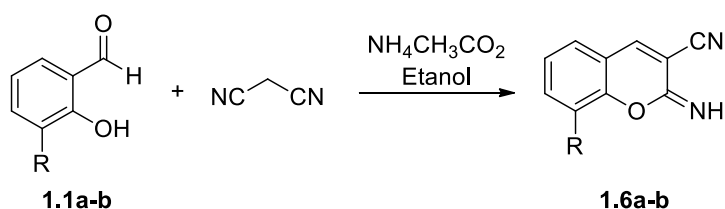
A reação de salicilaldeído com malononitrilo em piperidina e com um ligeiro aquecimento foi reportada por L. Woods e J. Sapp <sup>[14]</sup>. Após a adição de ácido clorídrico e refluxo de 18 horas, foi isolado o ácido 2-oxo-2H-cromeno-3-carboxílico **1.5** com um rendimento de aproximadamente 80% (Esquema 1.3).





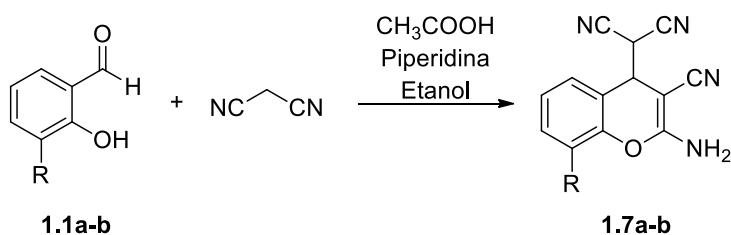
**Esquema 1.3** - Reação de salicilaldeído com malononitrilo em piperidina. Adaptado de L. Woods e J. Sapp <sup>[14]</sup>.

A. Sakurai *et al.* <sup>[15]</sup> reportaram a reação de salicilaldeído com malononitrilo em etanol, na presença de acetato de amônio, à temperatura ambiente. O 2-imino-2H-cromeno-3-carbonitrilo **1.6a** foi isolado com um rendimento de 65%. Quando a reação foi realizada a partir do 3-metoxisalicilaldeído, o 2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-carbonitrilo **1.6b** foi isolado com um rendimento de 89% (Esquema 1.4).



**Esquema 1.4** - Reação de salicilaldeído com malononitrilo em etanol, na presença de acetato de amônio. Adaptado de A. Sakurai *et al.* <sup>[15]</sup>.

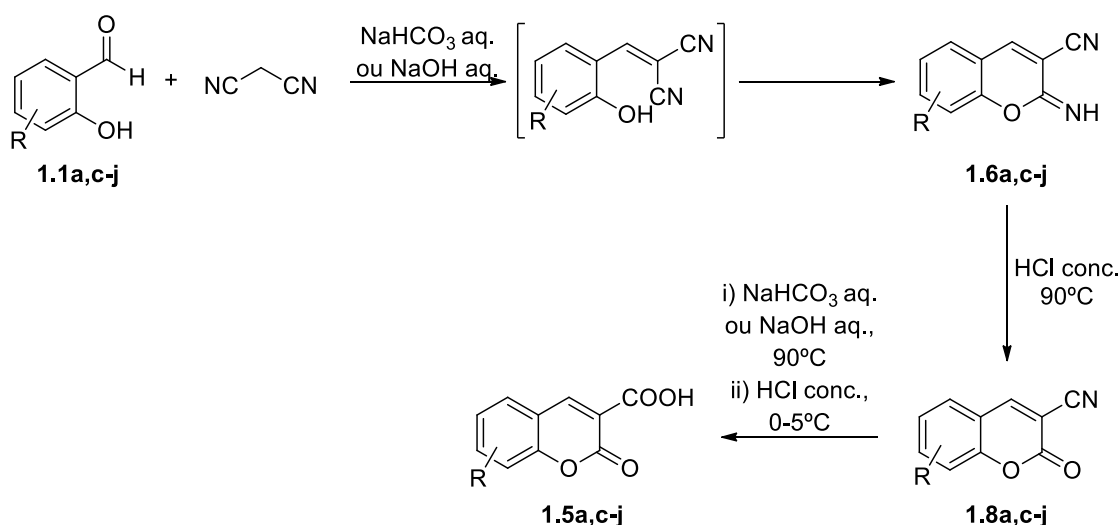
A mesma reação, realizada em etanol e piperidina, na presença de ácido acético, à temperatura ambiente, foi reportada por O'Callaghan *et al.* <sup>[16]</sup>. O produto **1.7a** foi obtido com um rendimento de 90%. Na reação com 3-metoxisalicilaldeído foi isolado **1.7b** com um rendimento de 89% (Esquema 1.5).



**Esquema 1.5** - Reação de salicilaldeído com malononitrilo em etanol e piperidina, na presença de ácido acético. Adaptado de O'Callaghan *et al.* <sup>[16]</sup>.

O ácido 2-oxo-2H-cromeno-3-carboxílico **1.5a** foi também sintetizado e reportado por F. Fringuelli *et al.* <sup>[17]</sup> assim como a síntese de seus derivados **1.5c-j** (Tabela 1.2).

Num primeiro passo, a reação dos salicilaldeídos com malononitrilo realizou-se em solução aquosa de  $\text{NaHCO}_3$  ou  $\text{NaOH}$  (pH 8,3-13,3), à temperatura ambiente, gerando os 2-imino-2*H*-cromeno-3-carbonitrilos **1.6a,c-j**. Segundo os autores, nesta etapa foi possível isolar os produtos **1.6a,c-j**, ou então adicionar ácido e prosseguir a reação com aquecimento a  $90^\circ\text{C}$ , formando os 2-oxo-2*H*-cromeno-3-carbonitrilos **1.8a,c-j**. Nesta etapa foi também possível, de acordo com os autores, isolar os produtos **1.8a,c-j**, ou adicionar base com novo aquecimento a  $90^\circ\text{C}$ , seguida de adição de ácido a  $0-5^\circ\text{C}$ , para formar os ácidos 2-oxo-2*H*-cromeno-3-carboxílicos **1.5a,c-j** (Esquema 1.6).



**Esquema 1.6** – Reação de síntese dos ácidos 2-oxo-2*H*-cromeno-3-carbonitrilos **1.5a,c-j**. Adaptado de F. Fringuelli *et al.* <sup>[17]</sup>.

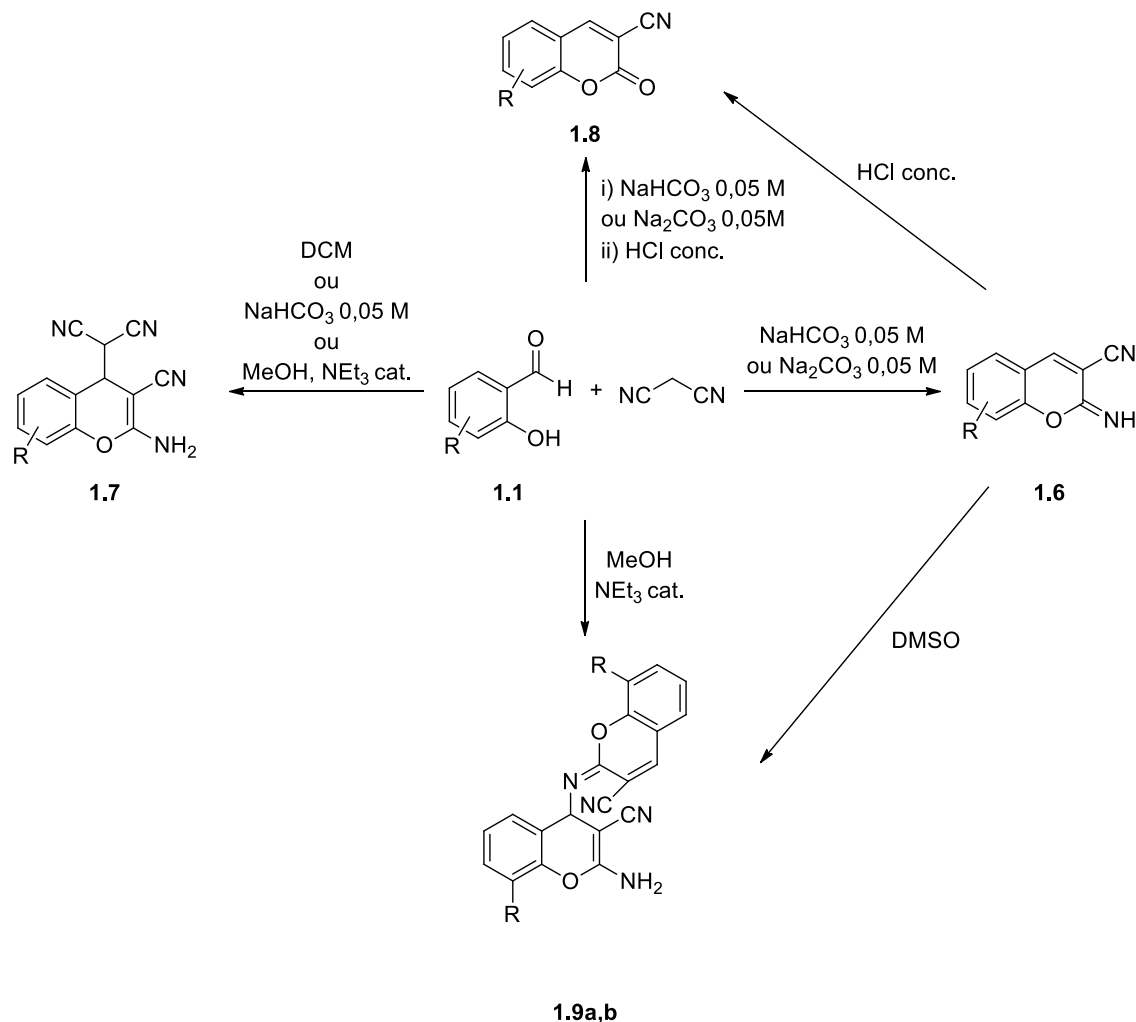
**Tabela 1.2** – Rendimentos reportados para a síntese de 2-oxo-2*H*-cromeno-3-carbonitrilos **1.8a,c-j** e dos ácidos 2-oxo-2*H*-cromeno-3-carboxílicos **1.5a,c-j**. Adaptado de F. Fringuelli *et al.* <sup>[17]</sup>.

R	2-oxo-2 <i>H</i> -cromeno-carbonitrilo ( $\eta$ ) <sup>a</sup>	ácido 2-oxo-2 <i>H</i> -cromeno-carboxílico ( $\eta$ ) <sup>b</sup>
H	<b>1.8a</b> (90%)	<b>1.5a</b> (90%)
6-Cl	<b>1.8c</b> (95%)	<b>1.5c</b> (85%)
6-OH	<b>1.8d</b> (85%)	<b>1.5d</b> (80%)
7-OH	<b>1.8e</b> (85%)	<b>1.5e</b> (85%)
7-OCH <sub>3</sub>	<b>1.8f</b> (95%)	<b>1.5f</b> (95%)
8-OH	<b>1.8g</b> (85%)	<b>1.5g</b> (85%)
8-t-Bu	<b>1.8h</b> (84%)	<b>1.5h</b> (60%)
5,7-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	<b>1.8i</b> (90%)	<b>1.5i</b> (90%)
6,8-(t-Bu) <sub>2</sub>	<b>1.8j</b> (95%)	<b>1.5j</b> (89%)

<sup>a</sup> Rendimento do composto isolado;

<sup>b</sup> Rendimento total do composto isolado.

M. Costa *et al.* <sup>[18]</sup> estudou também a reatividade de salicilaldeídos com malononitrilo, estudo esse, que mostrou que o produto isolado era determinado pelas condições reacionais usadas (Esquema 1.7).



**Esquema 1.7** – Estudo da reatividade de salicilaldeídos com malononitrilo. Adaptado de M. Costa *et al.* <sup>[18]</sup>

A reação de salicilaldeído com 1 eq. de malononitrilo realizada em solução aquosa de NaHCO<sub>3</sub> (0,05M) ou de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,05M), à temperatura ambiente ou a 0°C, gerou os 2-imino-2H-cromenos-3-carbonitrilos **1.6** isolados com bons rendimentos (Tabela 1.3).

**Tabela 1.3** – Reação de salicilaldeído com 1 eq. de malononitrilo.

R (Salicilaldeído)	Condições reacionais	Produto ( $\eta$ )
H	NaHCO <sub>3</sub> (0,05 M); t.a.; 7 h	<b>1.6a</b> (86%) <sup>a</sup>
H	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (0,05 M); t.a.; 17 h	<b>1.6a</b> (90%) <sup>a</sup>
3-OCH <sub>3</sub>	NaHCO <sub>3</sub> (0,05 M); t.a.; 6 h	<b>1.6b</b> (90%) <sup>a</sup>
3-OCH <sub>3</sub>	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (0,05 M); t.a.; 3 h 30 min	<b>1.6b</b> (91%) <sup>a</sup>
3-OH	NaHCO <sub>3</sub> (0,05 M); t.a.; 7 h	<b>1.6g</b> (89%) <sup>b</sup>
3-OH	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (0,05 M); t.a.; 4 h 30 min	<b>1.6g</b> (70%) <sup>b</sup>
5-Br	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (0,05 M); t.a.; 1 dia	<b>1.6l</b> (86%)
3,4-OH	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (0,05 M); 0°C; 2 h	<b>1.6m</b> (62%)
4-NEt <sub>2</sub>	NaHCO <sub>3</sub> (0,05 M); t.a.; 20 h	<b>1.6n</b> (88%)
3-OCH <sub>3</sub> , 5-Br	NaHCO <sub>3</sub> (0,05 M); t.a.; 22 h	<b>1.6o</b> (100%)

<sup>a</sup> Reportada na ref<sup>a</sup> 15;<sup>b</sup> Reportada na ref<sup>a</sup> 17.

Quando a reação foi realizada com 2 eq. de malononitrilo, em diclorometano, metanol ou solução aquosa de NaHCO<sub>3</sub> (0,05 M), na presença de trietilamina em quantidade catalítica, foi isolado o (2-amino-3-ciano-4-*H*-cromeno-4-il)malononitrilo **1.7** (Tabela 1.4).

**Tabela 1.4** - Reação de salicilaldeído com 2 eq. de malononitrilo.

R (Salicilaldeído)	Condições reacionais	Produto ( $\eta$ )
H	DCM; 9°C; 1 mês	<b>1.7a</b> (84%) <sup>a</sup>
H	DCM; NEt <sub>3</sub> ; t.a.; 11 h	<b>1.7a</b> (74%) <sup>a</sup>
H	NaHCO <sub>3</sub> 0,05M; t.a.; 40 min	<b>1.7a</b> (91%) <sup>a</sup>
3-OCH <sub>3</sub>	MeOH; NEt <sub>3</sub> ; 0°C; 1 h 30 min; 9°C; 15 h 30 min	<b>1.7b</b> (94%) <sup>a</sup>
3-OCH <sub>3</sub>	DCM; NEt <sub>3</sub> ; t.a.; 5 h	<b>1.7b</b> (82%) <sup>a</sup>
3-OCH <sub>3</sub>	NaHCO <sub>3</sub> 0,05M; t.a.; 8 min	<b>1.7b</b> (100%) <sup>a</sup>
3-OH	DCM; 8°C; 14 dias	<b>1.7g</b> (90%)
3-OH	NaHCO <sub>3</sub> 0,05M; t.a.; 6 min	<b>1.7g</b> (85%)
5-Br	DCM; 8°C; 17 dias	<b>1.7l</b> (63%)
5-Br	DCM; NEt <sub>3</sub> ; t.a.; 2 h	<b>1.7l</b> (92%)
5-Br	NaHCO <sub>3</sub> 0,05M; t.a.; 30 min	<b>1.7l</b> (73%)
3-OCH <sub>3</sub> , 5-Br	DCM; NEt <sub>3</sub> ; t.a.; 4 h 30 min	<b>1.7o</b> (73%)

<sup>a</sup> Reportada na ref<sup>a</sup> 16.

A reação de salicilaldeído com malononitrilo, em solução aquosa de NaHCO<sub>3</sub> 0,05M ou de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,05M, à temperatura ambiente, seguida de adição de HCl concentrado com aquecimento a 80-90°C, levou também à formação do 2-oxo-2-*H*-imino-3-carbonitrilo **1.8** (Tabela 1.5).

**Tabela 1.5** – Reação de síntese do 2-oxo-2H-cromeno-3-carbonitrilo **1.8**.

R (Salicilaldeído)	Condições reacionais	Produto (η)
H	i) 2 eq. malononitrilo; Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,05 M; t.a.; 16 h ii) 3,7 eq. HCl conc.; 80°C; 2 h	<b>1.8a</b> (87%) <sup>a</sup>
3-OCH <sub>3</sub>	i) 1 eq. malononitrilo; Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,05 M; t.a.; 21 h ii) 3,7 eq. HCl conc.; 90°C; 4 h	<b>1.8b</b> (100%)
3-OH	i) 1 eq. malononitrilo; Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,05 M; t.a.; 2 h ii) 3,7 eq. HCl conc.; 80°C; 2 h 30 min	<b>1.8g</b> (84%)
3-OH	i) 2 eq. malononitrilo; Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,05 M; t.a.; 12 h ii) 3,7 eq. HCl conc.; 80°C; 5 h 30 min	<b>1.8g</b> (90%)

<sup>a</sup>Reportada na ref<sup>a</sup> 17.

A reação do salicilaldeído **1.1a** com 2 eq. de malononitrilo, em metanol e trietilamina, levou a formação do dímero **1.9a**, após um dia em agitação à temperatura ambiente, isolado com um rendimento de 85%. A mesma reação com 3-metoxisalicilaldeído **1.1b**, originou uma mistura de **1.1b** e do dímero **1.9b**, na proporção de 2 para 1, respetivamente. Quando a mistura foi solubilizada num pequeno volume de DMSO e colocada a agitar à temperatura ambiente, isolou-se, após 21 dias, o produto dímero **1.9b**, com um rendimento de 76%. As reações com outros salicilaldeídos originaram uma mistura de (2-amino-3-ciano-4H-cromeno-4-il)malononitrilo **1.7** e de dímero **1.9**, sendo este o composto minoritário. Em alguns casos, formou-se uma mistura complexa com degradação extensa.



## Capítulo 2

---

### Resultados e Discussão

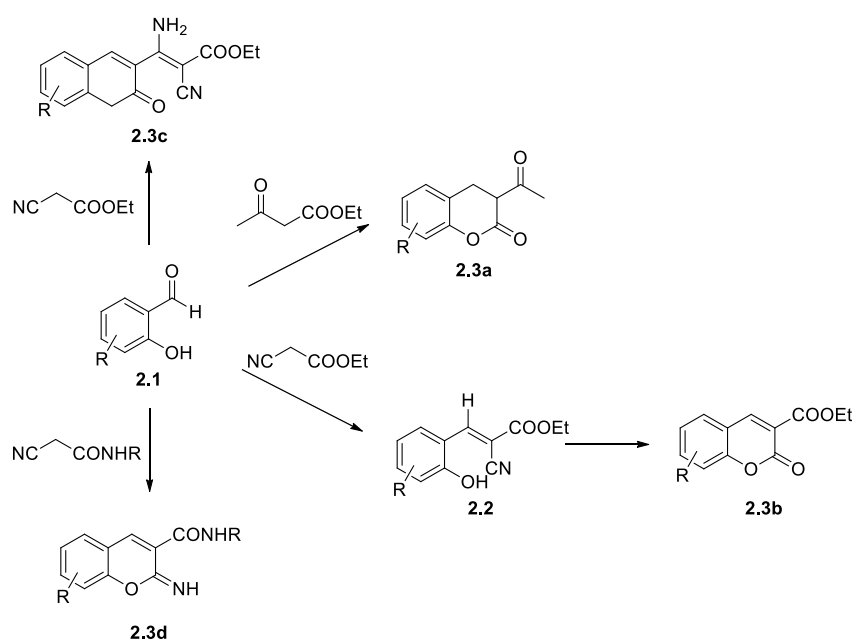




## 2.1 Introdução

Ao longo da última década, o grupo de investigação tem-se dedicado ao estudo da reatividade de salicilaldeídos com compostos de metileno ativado para a formação de derivados de cromeno (Esquema 2.1), em virtude destas estruturas apresentarem grande probabilidade de serem biologicamente ativas.

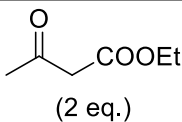
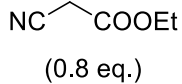
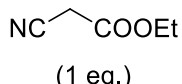
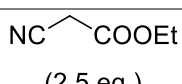
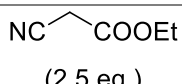
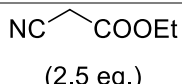
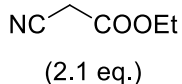
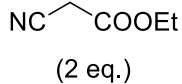
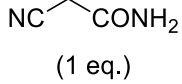
Nesse sentido, foram anteriormente isolados 2-oxo-2*H*-cromenos e 2-imino-2*H*-cromenos **2.3**, nas condições referidas na tabela 2.1, usando salicilaldeído ou derivados **2.1** como precursores.



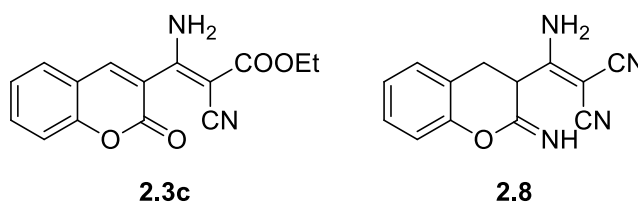
**Esquema 2.1** – Reações de salicilaldeído com compostos de metileno ativado gerando derivados de cromeno.

Além destes, foram ainda sintetizados outros 2-oxo-2*H*-cromenos e 2-imino-2*H*-cromenos por reação dos salicilaldeídos **2.1** com malononitrilo. Estas reações estão relatadas no capítulo 1 (Esquema 1.7, tabelas 1.3, 1.4 e 1.5) deste trabalho.

**Tabela 2.1** – Condições reacionais anteriormente usadas na formação dos derivados de cromeno **2a-d**, tendo como precursor o salicilaldeído.

Entrada	Composto de metileno ativado	Condições reacionais	Produto ( $\eta$ )
1	 (2 eq.)	Piperidina (1 eq.); Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,05 M; t.a.; 30 h	<b>2.3a</b> (69%)
2	 (0.8 eq.)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,05 M; t.a.; 25 min	<b>2.2</b> (95%)
3	 (1 eq.)	i) Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,05 M; t.a.; 1 h 25 min ii) HCl conc. (4 eq.); 80°C; 5 h iii) 10°C; 16 h	<b>2.3b</b> (65%)
4	 (2.5 eq.)	DABCO (2 eq.); Etanol; 80°C; 3 h	<b>2.3c</b> (87%)
5	 (2.5 eq.)	Quinuclidina (1 eq.); Etanol; 80°C; 3 h 30 min	<b>2.3c</b> (83%)
6	 (2.5 eq.)	Quinuclidina (1 eq.); Etanol; 80°C; 3 h	<b>2.3c</b> (72%)
7	 (2.1 eq.)	Quinuclidina (0,3 eq.); Etanol; 80°C; 2 h 10 min	<b>2.3c</b> (33%)
8	 (2 eq.)	DABCO (0,5 eq.); Etanol; 80°C; 2 h 10 min	<b>2.3c</b> (59%)
9	 (1 eq.)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,05 M; t.a.; 3 dias	<b>2.3d</b> (100%)

No sentido de prosseguir a investigação, o presente trabalho teve como objetivo o estudo das melhores condições reacionais para a síntese de derivados de cromeno análogos do composto **2.3c**, por reação de salicilaldeídos **2.1** com malononitrilo. Este processo deveria permitir obter os cromenos **2.8** com um grupo imina na posição 2 (Figura 2.1). A presença da cadeia lateral na posição 3, deveria possibilitar o uso destes compostos como precursores de estruturas incorporando um terceiro anel aromático fundido.

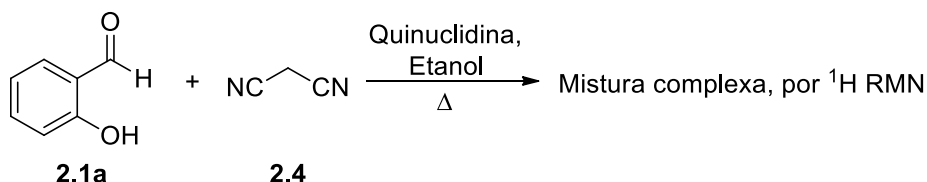


**Figura 2.1** – Estrutura do 2-imino-2*H*-cromeno sintetizado anteriormente (**2.3c**) e estrutura análoga que pretendemos preparar neste trabalho (**2.8**).

Os compostos sintetizados iriam ser testados como anticancerígenos em linhas celulares MCF-7 e Hs578t do cancro da mama.

## 2.2 Síntese de derivados de 2-imino-2*H*-cromenos

De acordo com os estudos anteriores, e na tentativa de sintetizar os 2-imino-2*H*-cromenos pretendidos **2.8** foi realizada a reação de salicilaldeído com 2,5 eq. de malononitrilo **2.4** em refluxo de etanol, na presença de quinuclidina. Estas condições experimentais reproduziam as anteriormente usadas na síntese dos 2-imino-2*H*-cromenos **2.3c** por reação de salicilaldeído com cianoacetato de etilo. A reação com malononitrilo gerou uma mistura complexa não identificável por  $^1\text{H}$  RMN (Esquema 2.2 e Tabela 2.2, Entrada 1).



**Esquema 2.2** - Reação de salicilaldeído com malononitrilo (Entrada 1, Tabela 2.1).

Na tentativa de obter o produto pretendido foram realizadas novas reações variando as condições experimentais usadas (Tabela 2.2).

As reações realizadas à temperatura ambiente, na presença de quinuclidina (1 eq.) ou DABCO (2 eq.), geraram novamente misturas complexas não identificáveis por  $^1\text{H}$  RMN (Tabela 2.2, entradas 2 e 3).

Quando se realizou a reação em refluxo, com 2,5 eq. de malononitrilo **2.4**, utilizando DABCO, obteve-se uma mistura de dois produtos principais não identificados (Tabela 2.2, entrada 4). No espectro de  $^1\text{H}$  RMN são visíveis três singletos, a  $\delta$  3,66 ppm, 6,29 ppm e 6,49 ppm, para o produto principal

maioritário. Este produto apresenta também dois dupletos a  $\delta$  4,51 ppm e 4,60 ppm, com uma constante de acoplamento de 5,6 Hz, e dois singletos a  $\delta$  8,12 ppm e 8,64 ppm.

No sentido de estudar a influência da quantidade de malononitrilo **2.4** na obtenção do produto realizou-se a reação em refluxo de etanol, na presença de DABCO, com 1,2 eq. de malononitrilo. Obteve-se novamente, por comparação com o espectro de  $^1\text{H}$  RMN, uma mistura idêntica à anteriormente gerada usando 2,5 eq. de malononitrilo **2.4** (Tabela 2.2 Entrada 5).

A mesma mistura de produtos foi obtida quando se realizou a reação com 3,2 eq. de malononitrilo **2.4** (Tabela 2.2, entrada 6), embora o produto maioritário apresente agora sinais de  $^1\text{H}$  RMN a  $\delta$  4,51 (d) ppm, 4,60 (d) ppm, 8,12 (s) ppm e 8,64 (s) ppm.

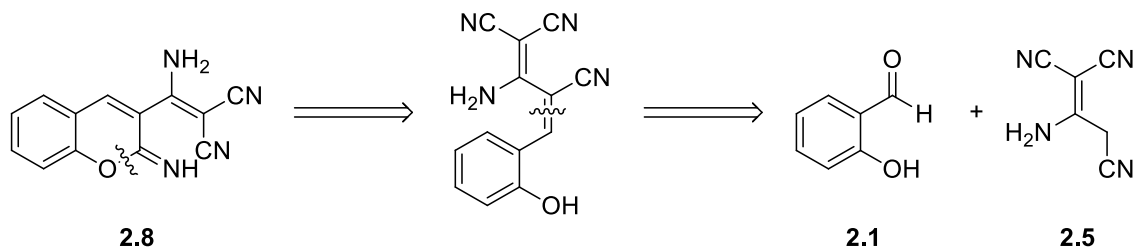
Numa última tentativa, usou-se 2,5 eq. de malononitrilo **2.4** e realizou-se a reação em refluxo de acetonitrilo, na presença de DABCO. Obteve-se uma mistura com dois produtos principais, que por  $^1\text{H}$  RMN não apresentam os mesmos sinais que os produtos das reações anteriores, e foi possível identificar também malononitrilo **2.4** e DABCO (Tabela 2.2, entrada 7).

**Tabela 2.2** - Condições experimentais usadas na reação de salicilaldeído com malononitrilo.

Entrada	Condições	Produto(s)
1	2,5 eq. <b>2.4</b> ; 1 eq. Quinuclidina; Etanol; Refluxo; 6 h 20 min	Mistura complexa, por $^1\text{H}$ RMN
2	2,5 eq. <b>2.4</b> ; 1 eq. Quinuclidina; Etanol; t.a. 1 h	Mistura complexa, por $^1\text{H}$ RMN
3	2,5 eq. <b>2.4</b> ; 2 eq. DABCO; Etanol; t.a.; 1 h	Mistura complexa, por $^1\text{H}$ RMN
4	2,5 eq. <b>2.4</b> ; 1 eq. DABCO; Etanol; Refluxo; 5 h 30 min	Mistura de dois produtos principais não identificados, por TLC e $^1\text{H}$ RMN
5	1,2 eq. <b>2.4</b> ; 2 eq. DABCO; Etanol; Refluxo; 4 h 50 min	Mistura de dois produtos principais não identificados, por TLC e $^1\text{H}$ RMN
6	3,2 eq. <b>2.4</b> ; 2 eq. DABCO; Etanol; Refluxo; 6 h 20 min	Mistura de dois produtos principais não identificados, por TLC e $^1\text{H}$ RMN
7	2,5 eq. <b>2.4</b> ; 2 eq. DABCO; ACN; Refluxo; 4 h 15 min	Mistura de pelo menos dois produtos não identificados, malononitrilo <b>2.4</b> e DABCO, por TLC e $^1\text{H}$ RMN

Dado que, em todas as reações com malononitrilo se obtiveram misturas de pelo menos dois produtos e nenhum deles parecia apresentar a estrutura pretendida, fez-se a análise retrossintética do produto **2.8** (Esquema 2.3) e decidiu-se substituir o malononitrilo pelo seu dímero, o 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5**. A obtenção de misturas nas reações envolvendo o monômero poderá estar

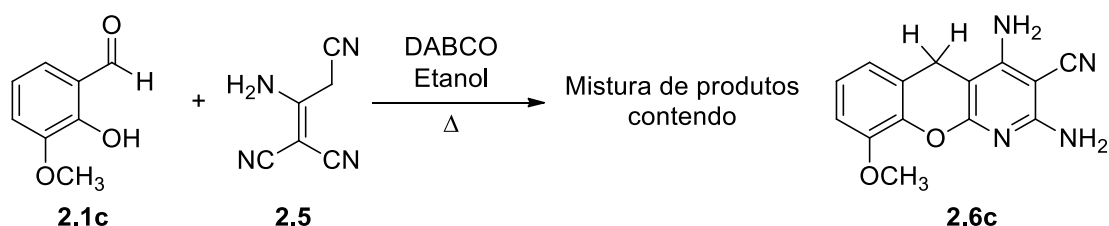
relacionada com a elevada reatividade do malononitrilo e sabe-se de trabalhos anteriores, que a reação pode seguir diferentes caminhos dependendo das condições experimentais. Com o uso do dímero **2.5** pretendia-se aumentar a seletividade na formação do produto.



**Esquema 2.3** – Análise retrossintética do produto **2.8**.

As reações de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** foram testadas com *o*-vanilina **2.1c**. Neste caso, a presença do grupo metoxilo no anel aromático permitia que este fosse usado como marcador, no espectro de  $^1\text{H}$  RMN, para identificar o número de produtos distintos em possíveis misturas.

Começou-se por realizar a reação de *o*-vanilina **2.1c** com 1 eq. de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** em refluxo de etanol, na presença de DABCO. Na primeira fração recolhida, obteve-se uma mistura pelo menos dois produtos, sendo um deles identificado como o 2,4-diamino-9-metoxi-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo **2.6c**. Na segunda fração foi isolado o mesmo produto praticamente puro (Esquema 2.4) (Tabela 2.3, entrada 1).

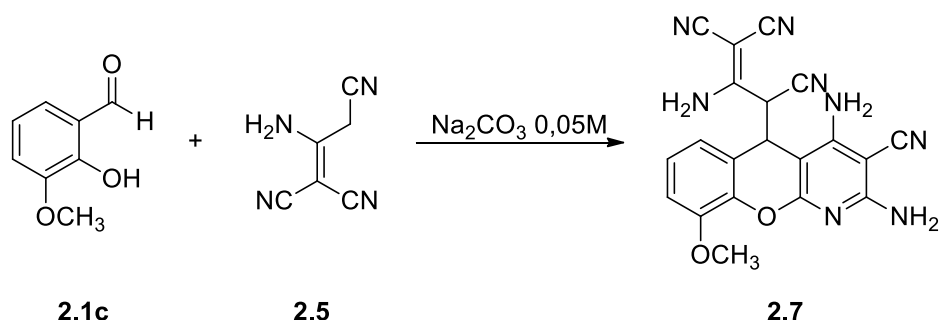


**Esquema 2.4** - Reação de *o*-vanilina **2.1c** com 2-imino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** (Tabela 2.3, Entrada 1).

A reação anterior foi repetida à temperatura ambiente, obtendo-se uma mistura de pelo menos três produtos não identificados (Tabela 2.3, entrada 2).

Em estudos anteriores feitos pelo grupo de investigação sobre a síntese de derivados de cromeno, verificou-se que o uso de solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,05 M conduzia com sucesso à formação de produtos puros que precipitavam do meio reacional. Assim, a reação de salicilaldeídos **2.1** com 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** foi também realizada em solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,05 M à

temperatura ambiente, obtendo-se uma mistura de dois produtos, identificados como sendo dois isômeros de 2-amino-3-(2,4-diamino-3-ciano-9-metoxi-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridin-5-il)prop-1-eno-1,1,3-tricarbonitrilo **2.7**, presentes na proporção de 10:3 em solução de DMSO- $d_6$  (Esquema 2.5). A mesma mistura de dois isômeros de **2.7** foi obtida quando a reação foi realizada em solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 M/etanol (1:1) e colocada num banho de ultrassons à temperatura ambiente durante 15 minutos (Esquema 2.5, tabela 2.3, entradas 3 e 4).

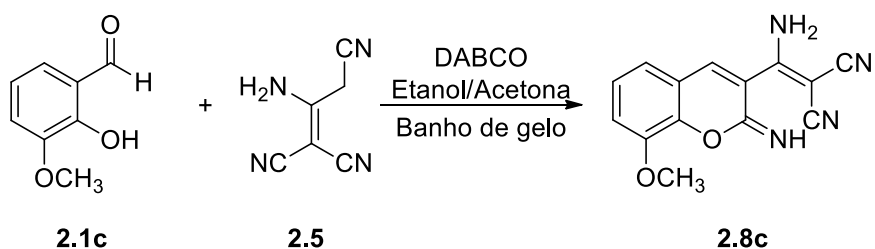


**Esquema 2.5** – Reação de *o*-vanilina **2.1c** com o dímero **2.5** em solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,05 M, à temperatura ambiente.

Considerando a baixa solubilidade do dímero **2.5** nos solventes usados e assumindo que esta insolubilidade podia contribuir para a formação de misturas, decidiu-se realizar a reação entre *o*-vanilina **2.1c** e **2.5** em etanol/acetona, já que este último solvente mostrou uma boa capacidade para solubilizar o dímero. A mistura foi colocada em banho de gelo após adição de DABCO. O produto isolado por filtração da mistura reacional foi identificado como sendo o 2-(amino(2-imino-8-metoxi-2*H*-cromen-3-il)metileno)malononitrilo **2.8c** (Esquema 2.6, tabela 2.3, entrada 5).

**Tabela 2.3** – Otimização das condições experimentais para a reação de *o*-vanilina **2.1c** com 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5**.

Entrada	Condições	Produto(s)
1	1,2 eq. de <b>2.5</b> ; 2 eq. DABCO; Etanol; Refluxo; 5 h	1ª fração: Mistura de pelo menos 2 produtos, contendo <b>2.6</b> por TLC e $^1\text{H}$ RMN 2ª fração: <b>2.6c</b> contaminado ligeiramente, por $^1\text{H}$ RMN
2	1,2 eq. de <b>2.5</b> ; 2 eq. DABCO; Etanol; t.a.; 16 h 15 min	Mistura de pelo menos 3 produtos não identificados, por TLC e $^1\text{H}$ RMN
3	1,2 eq. de <b>2.5</b> ; $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 0,05M; t.a.; 120 h	<b>2.7</b> (25%)
4	1,2 eq. de <b>2.5</b> ; $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 0,1M/Etanol (1:1); ultrassons à t.a.; 15 min	<b>2.7</b> (88%)
5	1 eq. de <b>2.5</b> ; 0,9 eq. DABCO; Etanol/Acetona; Gelo; 2 h 10 min	<b>2.8c</b> (73%)



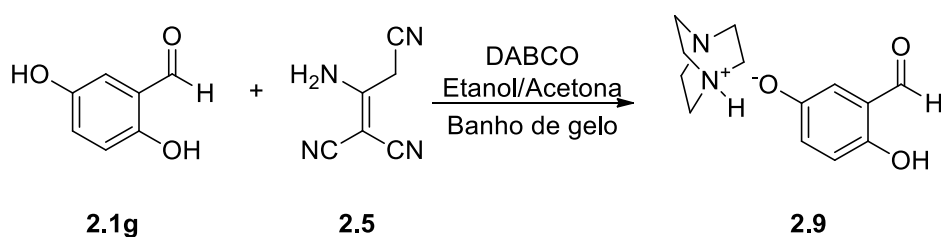
**Esquema 2.6** - Reação de *o*-vanilina **2.1c** com 2-imino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** (Entrada 5, Tabela 2.2).

Foi sintetizada uma série de 2-imino-2*H*-cromenos a partir de outros salicilaldeídos substituídos utilizando as condições experimentais otimizadas (Tabela 2.4).

A reação dos salicilaldeídos **2.1a**, **2.1b** e **2.1e** com 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** nas condições descritas, gerou os 2-imino-2*H*-cromenos respectivos, no entanto, todos eles continham uma ligeira contaminação, observada nos seus espectros de  $^1\text{H}$  RMN (Tabela 2.4, entradas 1, 3 e 13).

Na reação de 3-metilsalicilaldeído **2.1e** com 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** nas mesmas condições, isolou-se o 2-imino-2*H*-cromeno **2.8e** contaminado com DABCO, na proporção de 5:1, respetivamente (Tabela 2.4, entrada 8).

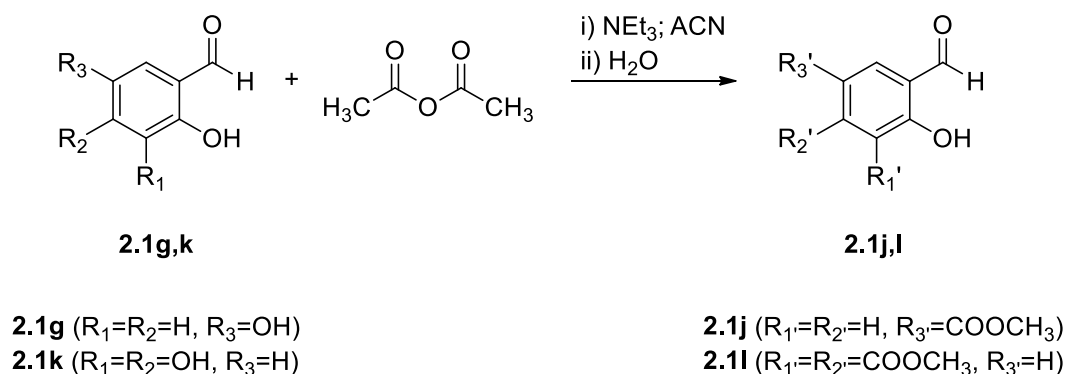
Quando se utilizou o 2,5-dihidroxibenzaldeído **2.1g**, a reação com o dímero **2.5** na presença de DABCO gerou apenas o sal de 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octan-1-ium 2-formil-4-hidroxifenolato **2.9** (Esquema 2.7, tabela 2.4, entrada 11).



**Esquema 2.7** – Reação de 2,5-dihidroxibenzaldeído com o 2-imino-1,1,3-tricianopropeno na presença de DABCO.

Tendo em conta, o insucesso da reação anterior, decidiu-se proteger um dos grupos hidroxilo por acetilação, fazendo reagir o 2,5-dihidroxibenzaldeído **2.1g** com 1,1 eq. de anidrido acético em acetonitrilo, na presença de trietilamina, à temperatura ambiente (Esquema 2.8). Obteve-se um sólido acinzentado após remoção do acetonitrilo e adição de água. Este produto foi identificado como o salicilaldeído **2.1j** acetilado seletivamente na posição 5 e isolado com um rendimento de 36%. O 2,3,4-trihidroxibenzaldeído **2.1k** foi também acetilado pelo mesmo método, usando 2,1 eq. de anidrido acético.

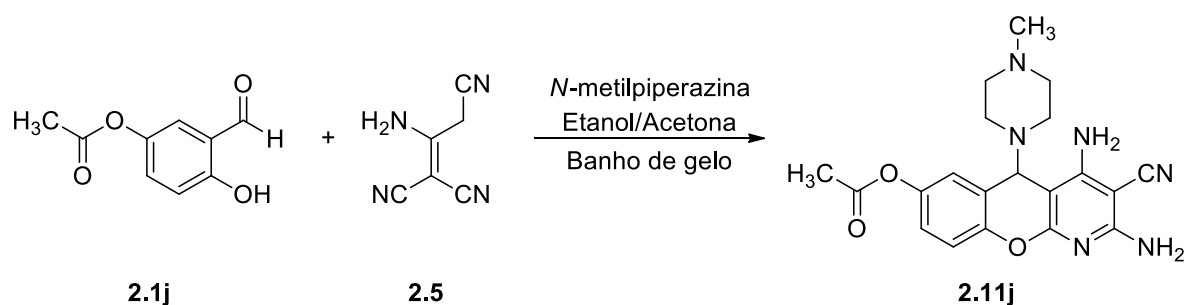
Obteve-se um sólido escuro, identificado como o salicilaldeído **2.1l** acetilado seletivamente nas posições 3 e 4, que foi isolado com um rendimento de 39%.



**Esquema 2.8** – Reação de acetilação dos salicilaldeídos **2.1g** e **2.1k**.

Na reação de acetato de 3-formil-4-hidroxifenil **2.1j** com 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** em etanol/acetona, na presença de DABCO, em banho de gelo, verificou-se por TLC que a reação não avançava, decidindo-se adicionar 2 eq. de *N*-metilpiperazina à mistura racional e colocá-la em agitação à temperatura ambiente, isolando-se a estrutura tricíclica **2.11j** ligeiramente contaminada (Tabela 2.4, entrada 16).

Na tentativa de sintetizar o 2-imino-2*H*-cromeno respectivo, realizou-se a reação de **2.1j** com o dímero **2.5** na presença de *N*-metilpiperazina, mantendo-se as restantes condições experimentais. Obteve-se novamente a estrutura tricíclica **2.11j**, desta vez pura, isolada com um rendimento de 38% (Esquema 2.9, tabela 2.4, entrada 17).



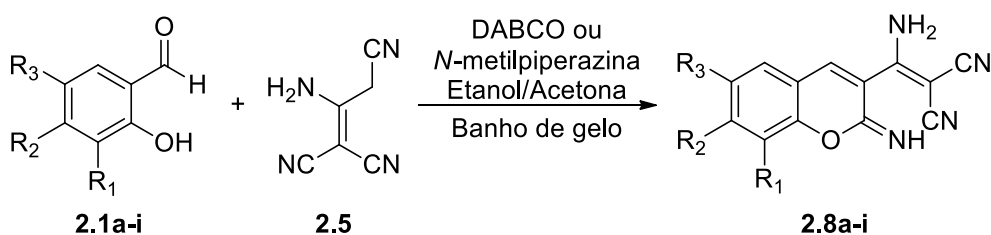
**Esquema 2.9** - Reação do acetato de 3-formil-4-hidroxifenil **2.1j** com 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5**.

A reação de 2,5-dihidroxibenzaldeído **2.1g** com o dímero **2.5** foi novamente realizada, tendo-se usado, tal como na reação anterior, a *N*-metilpiperazina. O sólido amarelo foi identificado como sendo o 2-(amino(6-hidroxi-2-imino-2*H*-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo **2.8g**, isolado com um rendimento de 74% (Tabela 2.4, entrada 12).



Atendendo a que o uso de *N*-metilpiperazina nestas reações de síntese se traduzia em processos mais limpos e ao isolamento dos produtos pretendidos puros e com melhores rendimentos, todas as reações foram repetidas na presença desta base (Tabela 2.4, entradas 2, 4, 6, 7, 9, 10, 12 e 14).

**Tabela 2.4** – Reação de salicilaldeídos **2.1a-j** com 1 eq. de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** em etanol/acetona e em banho de gelo.

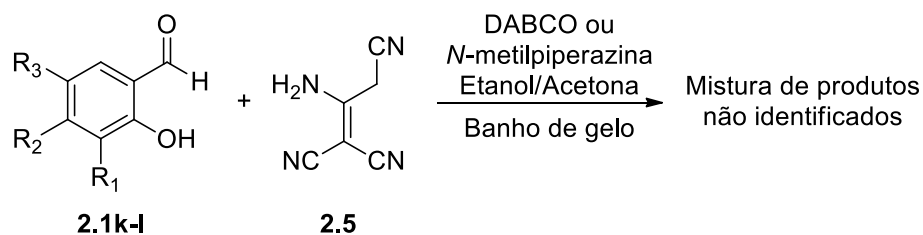


Entrada	Salicilaldeído			Condições reacionais	Produto(s) (η)
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>		
1	2.1a	H	H	0,9 eq. DABCO; 3 h 30 min	2.8a <sup>a</sup>
2	2.1a	H	H	2 eq. <i>N</i> -metilpiperazina; 30 min	2.8a (63%)
3	2.1b	CH <sub>3</sub>	H	0,9 eq. DABCO; 50 min	2.8b <sup>a</sup>
4	2.1b	CH <sub>3</sub>	H	1,1 eq. <i>N</i> -metilpiperazina; 1 h	2.8b (80%)
5	2.1c	OCH <sub>3</sub>	H	0,9 eq. DABCO; 40 min	2.8c (73%)
6	2.1c	OCH <sub>3</sub>	H	2 eq. <i>N</i> -metilpiperazina; 40 min	2.8c (82%)
7	2.1d	H	OCH <sub>3</sub>	2 eq. <i>N</i> -metilpiperazina; 50 min	2.8d (74%)
8	2.1e	H	CH <sub>3</sub>	0,9 eq. DABCO; 50 min	2.8e <sup>b</sup>
9	2.1e	H	CH <sub>3</sub>	2 eq. <i>N</i> -metilpiperazina; 40 min	2.8e (80%)
10	2.1f	H	OCH <sub>3</sub>	2 eq. <i>N</i> -metilpiperazina; 50 min	2.8f (82%)
11	2.1g	H	OH	0,9 eq. DABCO; 1 h 30 min	2.9 (46%)
12	2.1g	H	OH	2 eq. <i>N</i> -metilpiperazina; 1 h 10 min	2.8g (74%)
13	2.1h	H	Cl	0,9 eq. DABCO; 40 min	2.8h <sup>a</sup>
14	2.1h	H	Cl	2 eq. <i>N</i> -metilpiperazina; 55 min	2.8h (84%)
15	2.1i	H	Br	0,9 eq. DABCO; 40 min	2.8i (71%)
16	2.1j	H	CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	i) 0,9 eq. DABCO; 45 min ii) 2 eq. <i>N</i> -metilpiperazina; t.a.; 24 h	2.11j <sup>a</sup>
17	2.1j	H	CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	2 eq. <i>N</i> -metilpiperazina; 1 h 45 min	2.11j (38%)

<sup>a</sup>Produto ligeiramente contaminado por <sup>1</sup>H RMN;

<sup>b</sup>Produto contaminado com DABCO por <sup>1</sup>H RMN.

Na reação dos salicilaldeídos dissustituídos **2.1k**, **2.1l** e **2.1m** com 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5**, nas mesmas condições, obteve-se um sólido vermelho, que correspondia a uma mistura de produtos que não foram identificados e que evoluem rapidamente em DMSO-d<sub>6</sub> (Esquema 2.10). Foi possível confirmar, por <sup>1</sup>H RMN, que as misturas não continham o produto pretendido **2.8** nem o produto tricíclico **2.11**.



**2.1k** ( $R_1=\text{OH}$ ,  $R_2=\text{OH}$ ,  $R_3=\text{H}$ )

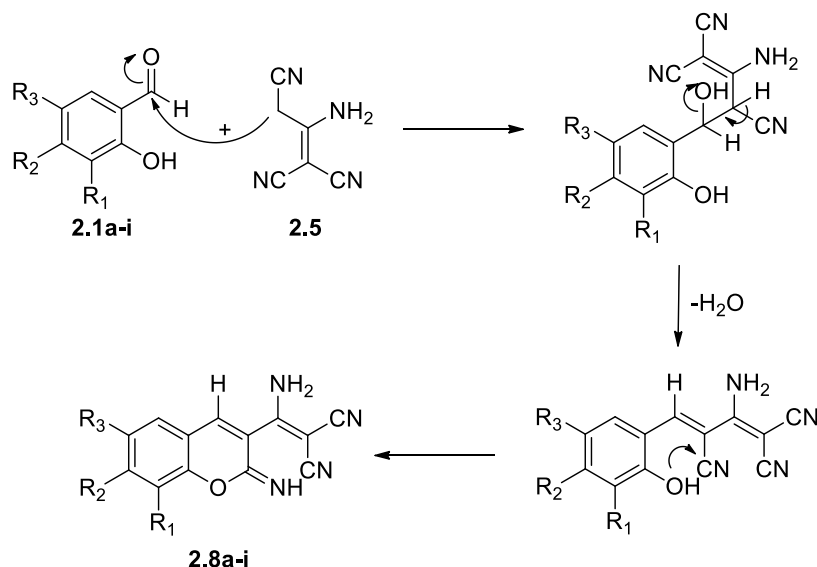
**2.1l** ( $R_1=\text{COOCH}_3$ ,  $R_2=\text{COOCH}_3$ ,  $R_3=\text{H}$ )

**2.1m** ( $R_1=\text{OCH}_3$ ,  $R_2=\text{H}$ ,  $R_3=\text{Br}$ )

**Esquema 2.10** – Reação dos salicilaldeídos **2.1k-m** com 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5**.

Em todas estas reações o dímero **2.5** foi adicionado após aproximadamente 1 minuto do início da agitação da restante mistura reacional em banho de gelo, para reduzir a probabilidade de formação de outros produtos contaminantes.

O mecanismo proposto para a formação dos produtos **2.8** anteriormente descritos inicia-se com o ataque nucleofílico do anião gerado a partir do carbono  $\text{sp}^3$  do dímero **2.5** ao carbono do grupo carbonilo do salicilaldeído. Forma-se um intermediário que por libertação de uma molécula de água gera a cadeia lateral conjugada. A ciclização intramolecular, por ataque nucleofílico do oxigénio fenólico (ou o seu anião) ao carbono do grupo ciano, pode ocorrer a partir de qualquer destes intermediários e gera o 2-imino-2*H*-cromeno **2.8**. Os intermediários propostos não foram identificados nem isolados (Esquema 2.11).



**Esquema 2.11** - Proposta mecanística para a formação dos 2-imino-2*H*-cromenos **2.8**.

### Caracterização espectroscópica

#### ▪ Espectroscopia de infravermelho

Nos espectros de infravermelho dos 2-imino-2H-cromenos **2.8a-i** formados (Tabela 2.5) é de realçar a presença de bandas de intensidade média-fraca entre 3403 e 3072  $\text{cm}^{-1}$ , correspondentes à vibração de estiramento da ligação N-H dos grupos amina e imina. De realçar ainda as duas bandas de intensidade média entre 2221 e 2194  $\text{cm}^{-1}$ , correspondentes à vibração de estiramento da ligação tripla dos grupos ciano. Entre 1671 e 1530  $\text{cm}^{-1}$ , são visíveis as bandas de fraca-média intensidade da vibração de estiramento das ligações C=C.

No espectro de infravermelho do composto **2.8g** ainda se observa uma banda a 3115  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde à vibração de estiramento do grupo OH.

**Tabela 2.5** - Dados espectroscópicos de IV ( $\text{Nujol}/\text{cm}^{-1}$ ) para os 2-imino-2H-cromenos **2.8a-i**.

Composto	3500-3000	C≡N	1700-1500
<b>2.8a</b>	3327, 3279, 3198, 3072	2220, 2200	1652, 1598, 1573, 1535
<b>2.8b</b>	3324; 3259	2216; 2204	1650, 1600, 1537
<b>2.8c</b>	3329; 3282; 3202	2220; 2199	1663, 1651, 1606, 1580
<b>2.8d</b>	3335; 3278; 3256; 3214; 3094	2217; 2201	1656, 1624, 1564, 1530
<b>2.8e</b>	3325; 3274; 3197	2220; 2202	1661, 1648, 1622, 1595, 1578
<b>2.8f</b>	3384; 3330; 3262; 3199	2208; 2194	1651, 1621, 1599, 1574
<b>2.8g</b>	3403; 3320; 3115	2224; 2217	1649, 1599, 1581, 1538
<b>2.8h</b>	3326; 3279; 3190	2221; 2204	1664, 1650, 1613, 1594, 1571
<b>2.8i</b>	3339; 3278; 3207	2220; 2204	1671, 1649, 1611, 1593, 1565

#### ▪ Espectroscopia de $^1\text{H}$ RMN

No espectro de  $^1\text{H}$  RMN do acetato de 3-formil-4-hidroxifenil **2.1j** é visível um singlete, integrado para 3 prótons, a deslocamento químico  $\delta$  2,31 ppm, referente ao grupo  $\text{CH}_3$ . A deslocamento químico  $\delta$  9,86 ppm, é visível um singlete, integrado para um próton, identificado como o próton do aldeído. O próton do grupo OH, surge a  $\delta$  10,91 ppm como um singlete.

No espectro de  $^1\text{H}$  RMN do diacetato de 4-formil-3-hidroxi-1,2-fenileno **2.1l** é visível um singlete, integrado para 6 prótons, a deslocamento químico  $\delta$  2,35 ppm, referente aos grupos  $\text{CH}_3$ . A deslocamento químico  $\delta$  9,88 ppm, é visível um singlete, integrado para um próton, identificado como o próton do aldeído. O próton do grupo OH, surge a  $\delta$  11,31 ppm como um singlete.

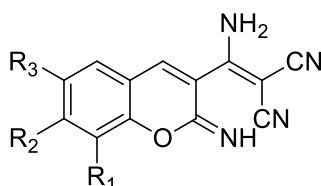
Nos espectros de  $^1\text{H}$  RMN dos 2-imino-2H-cromenos **2.8a-i** foi possível identificar sinais característicos destes compostos, sendo eles dois dupletos com uma constante de acoplamento muito

pequena, que por vezes aparecem como dois singletos e integram para um próton, referentes aos sinais dos prótons do grupo CH e do grupo imina. Há ainda dois singletos, que integram, cada um, para um próton, atribuídos aos prótons do grupo amina, estes dois sinais por vezes surgem como um único singletto largo que integra para dois prótons.

O produto **2.8d** da reação do dímero **2.5** com 4-metoxisalicilaldeído **2.1d**, mostra dois conjuntos de sinais no espectro de  $^1\text{H}$  RMN que parecem indicar a existência de dois isómeros (**A** e **B** num rácio de 4:1). Estes isómeros podem resultar da rotação impedida da cadeia lateral na posição 3. A rápida degradação do produto em DMSO- $d_6$  não permitiu estudar o efeito da temperatura na intensidade relativa dos sinais no espectro de  $^1\text{H}$  RMN.

Na tabela 2.6 são apresentados os valores do desvio químico dos sinais característicos para cada um dos compostos sintetizados.

**Tabela 2.6** - Dados espectroscópicos de  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) dos sinais característicos para os 2-imino-2H-cromenos **2.8a-i**.



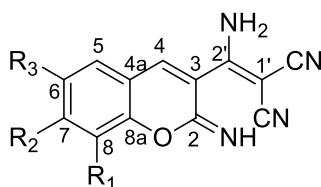
Composto	CH	NH	NH <sub>2</sub>
<b>2.8a</b>	7,73 (s; 1H)	8,63 (s; 1H)	8,91 (s; 1H); 8,94 (s; 1H)
<b>2.8b</b>	7,70 (d; J= 2Hz; 1H)	8,59 (d; J= 1,6Hz; 1H)	8,90 (s; 1H); 8,93 (s; 1H)
<b>2.8c</b>	7,70 (s; 1H)	8,70 (s; 1H)	8,91 (s; 1H); 8,93 (s; 1H)
<b>2.8d</b>	<b>A</b> 7,66 (s; J= 1,2Hz; 1H); <b>B</b> 8,00 (s; 1H)	<b>A</b> 8,46 (d; J= 1,2Hz; 1H); <b>B</b> 11,00 (s; 1H)	<b>A</b> 8,87 (s; 2H); <b>B</b> 8,87 (s; 2H)
<b>2.8e</b>	7,67 (d; J= 1,2Hz; 1H)	8,54 (d; J= 1,6Hz; 1H)	8,90 (s; 1H); 8,92 (s; 1H)
<b>2.8f</b>	7,65 (s; 1H)	8,49 (s; 1H)	8,92 (s; 1H); 8,94 (s; 1H)
<b>2.8g</b>	7,65 (s; 1H)	8,39 (s; 1H)	8,88 (s; 1H); 8,91 (s; 1H)
<b>2.8h</b>	7,69 (s; 1H)	8,82 (d; J= 1,6Hz; 1H)	8,93 (s; 1H); 8,99 (s; 1H)
<b>2.8i</b>	7,69 (d; J= 1,2Hz; 1H)	8,83 (d; J= 1,6Hz; 1H)	8,93 (s; 1H); 8,99 (s; 1H)

#### ▪ Espectroscopia de $^{13}\text{C}$ RMN

Os sinais do espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do acetato de 3-formil-4-hidroxifenil **2.1j** que comprovam a sua síntese, surgem a deslocamento químico de  $\delta$  20,96 ppm, para o carbono do grupo CH<sub>3</sub>, assim como, a deslocamento químico de  $\delta$  169,51 ppm atribuído ao carbono carbonílico do grupo acetato.

Nos espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN dos 2-imino-2H-cromenos **2.8a-i**, devido à sua instabilidade em solução (estes compostos evoluem para uma mistura complexa durante a obtenção do espectro) foi difícil a atribuição correta de todos os sinais. Na tabela 2.7 estão registados alguns sinais característicos que foi possível identificar. Com um deslocamento químico entre  $\delta$  49,62 e 50,05 ppm é visível o carbono  $\text{C}_{2'}$  que está ligado aos dois grupos ciano do produto. O sinal do carbono  $\text{C}_4$  com deslocamento químico a  $\delta$  135,42-137,13 ppm e o sinal do carbono  $\text{C}_3$  visível no intervalo  $\delta$  123,64-125,28 ppm também são identificáveis no espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN. Os sinais dos carbonos ligados ao grupo imina e ao grupo amina, surgem a  $\delta$  151,58-152,77 ppm e  $\delta$  167,84-168,42 ppm, respetivamente.

**Tabela 2.7** - Dados espectroscópicos de  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) dos sinais característicos para os 2-imino-2H-cromenos **2.8a-i**.



Composto	$\text{C}_2$	$\text{C}_3$	$\text{C}_4$	$\text{C}_{1'}$	$\text{C}_{2'}$
<b>2.8a</b>	152,30	124,02	136,81	49,96	168,28
<b>2.8b</b>	152,54	123,64	137,13	49,62	168,36
<b>2.8c</b>	151,94	124,91	136,96	49,62	168,34
<b>2.8d</b> <sup>a</sup>	<b>A)</b> 151,72	<b>A)</b> <sup>b</sup>	<b>A)</b> 135,63	<b>A)</b> 49,81	<b>A)</b> 168,42
<b>2.8e</b>	152,56	123,93	136,80	49,62	168,36
<b>2.8f</b>	152,77	124,49	136,70	50,05	168,42
<b>2.8g</b>	153,29	124,13	136,89	49,90	168,25
<b>2.8h</b>	151,64	125,28	135,51	50,05	167,87
<b>2.8i</b>	151,58	125,21	135,42	49,72	167,84

<sup>a</sup> Não foi possível identificar os sinais do conjunto “B” no espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN

<sup>b</sup> Não foi possível identificar o sinal no espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN

Estas atribuições foram confirmadas por HMQC e HMBC, sendo possível identificar as interações a 3 ligações do protão  $\text{H}_4$  aos carbonos  $\text{C}_2$  e  $\text{C}_{1'}$ . Foi identificada também a interação, a 3 ligações, do protão  $\text{H}_5$  ao carbono  $\text{C}_4$ . A interação do protão do grupo imina, a 3 ligações do carbono  $\text{C}_3$ , assim como, a sua interação a 2 ligações com o carbono  $\text{C}_2$ , são também identificadas. Em praticamente todos os compostos são visíveis as interações dos protões do grupo amina, a 3 ligações, aos carbonos  $\text{C}_{2'}$  e  $\text{C}_3$  (Figura 2.2).

O espectro de  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) e de  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do 2-(amino(2-imino-8-metil-2H-cromen-3-il)metileno)malononitrilo **2.8b** é apresentado na figura 2.3, como exemplo dos espectros registados para esta família de compostos.

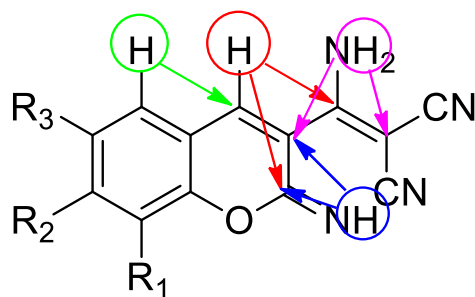


Figura 2.2 - Interações que possibilitam a atribuição dos principais sinais de  $^{13}\text{C}$  RMN, por HMBC.

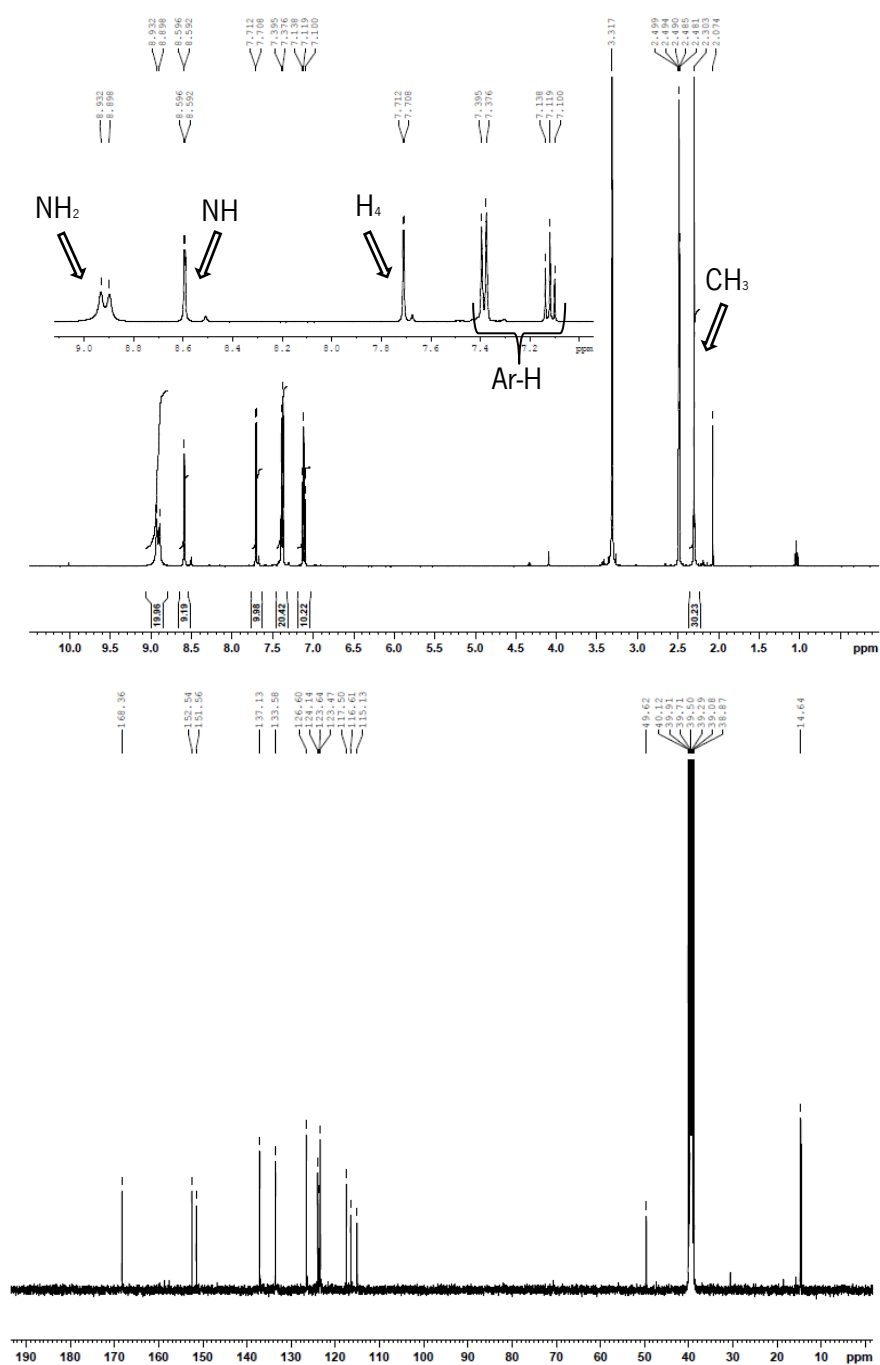
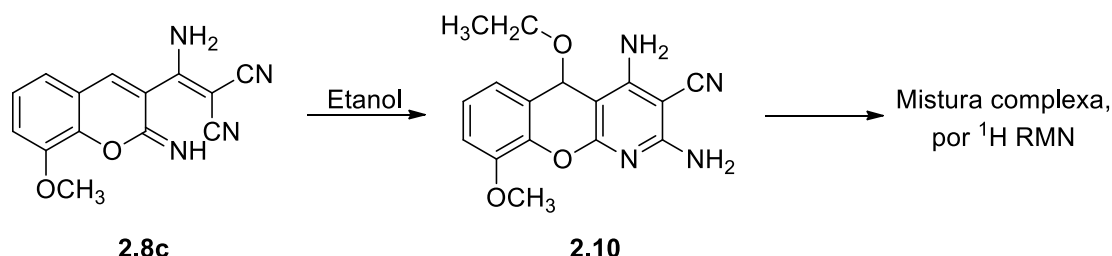


Figura 2.3 – Espetro de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN do 2-imino-2H-croмен 2.8b.

### 2.3 Síntese de derivados de 2,4-diamino-5H-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo

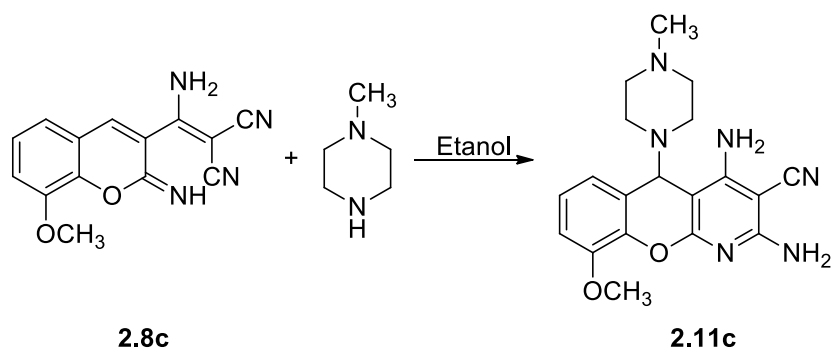
Na tentativa de sintetizar, por ciclização intramolecular, um composto com um terceiro anel fundido ao núcleo de cromeno colocou-se em agitação, à temperatura ambiente, uma suspensão de **2.8c** em etanol. Isolou-se o 2,4-diamino-5-etoxi-9-metoxi-5H-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo **2.10** com um rendimento de 76% (Esquema 2.12).

O produto **2.10** foi caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN embora apresente uma baixa estabilidade em DMSO- $d_6$ , evoluindo para uma mistura complexa. No espectro observa-se ainda o aumento dos sinais atribuídos ao etanol, concluindo-se que durante a evolução ocorre a saída do grupo etoxilo no composto. Verificou-se ainda que a evolução do produto **2.10** acontece mesmo em estado sólido não sendo possível a sua caracterização por IV nem a determinação do seu ponto de fusão.



**Esquema 2.12** – Reação de síntese do 2,4-diamino-5-etoxi-9-metoxi-5H-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo **2.10**.

Na tentativa de gerar análogos do composto **2.10** que pudessem apresentar maior estabilidade, foram adicionados 5 eq. de *N*-metilpiperazina à suspensão do 2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromen-3-il)metileno)malononitrilo **2.8c** em etanol. O produto obtido foi identificado como o 2,4-diamino-9-metoxi-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo **2.11c**, isolado com um rendimento de 79% (Esquema 2.13 e tabela 2.8, entrada 3).



**Esquema 2.13** – Síntese de 2,4-diamino-9-metoxi-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo **2.11c**.

Este produto mostrou ser estável em DMSO- $d_6$ , por  $^1\text{H}$  RMN. Nesse sentido, realizou-se a mesma reação a partir dos 2-imino-2*H*-cromenos **2.8** sintetizados anteriormente, obtendo-se sempre os respectivos produtos tricíclicos **2.11** (Tabela 2.8).

**Tabela 2.8** – Reação de 2-imino-2*H*-cromenos **2.8a-i** com a *N*-metilpiperazina (5 eq.) em etanol à temperatura ambiente.

Entrada	2-imino-2 <i>H</i> -cromeno	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Tempo reacional	Produto (η)
1	<b>2.8a</b>	H	H	H	18 h 30 min	<b>2.11a</b> (24%)
2	<b>2.8b</b>	CH <sub>3</sub>	H	H	16 h 30 min	<b>2.11b</b> (60%)
					19 h 40 min <sup>a</sup>	<b>2.11b</b> (78%)
3	<b>2.8c</b>	OCH <sub>3</sub>	H	H	22 h 30 min	<b>2.11c</b> (79%)
					22 h 10 min <sup>a</sup>	<b>2.11c</b> (74%)
4	<b>2.8d</b>	H	OCH <sub>3</sub>	H	17 h 20 min	<b>2.11d</b> (74%)
5	<b>2.8e</b>	H	H	CH <sub>3</sub>	28 h 40 min	<b>2.11e</b> (65%)
6	<b>2.8f</b>	H	H	OCH <sub>3</sub>	19 h 40 min	<b>2.11f</b> (68%)
7	<b>2.8g</b>	H	H	OH	26 h	<b>2.11g</b> (68%)
8	<b>2.8h</b>	H	H	Cl	23 h	<b>2.11h</b> (74%)
9	<b>2.8i</b>	H	H	Br	24 h	<b>2.11i</b> (81%)

<sup>a</sup>Reação com 2 eq. de *N*-metilpiperazina.

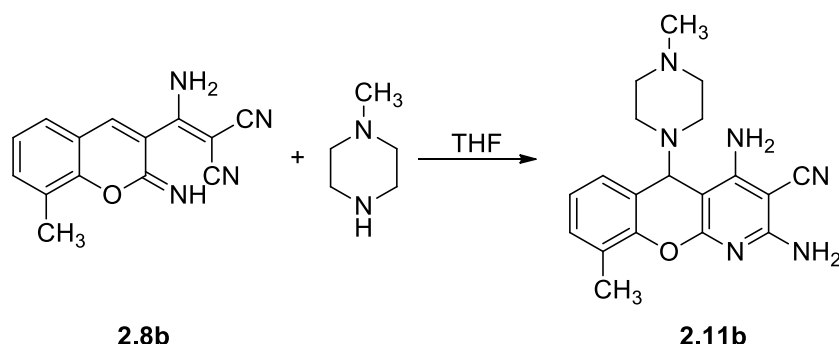
A reação com os 2-imino-2*H*-cromenos **2.8b** e **2.8c** foi repetida usando 2 eq. de *N*-metilpiperazina. Obteve-se igualmente os produtos **2.11b** e **2.11c**, isolados com rendimentos de 78% e 74%, respectivamente, mostrando não ser necessário o uso de uma quantidade de *N*-metilpiperazina superior.

Posteriormente, foi ainda estudado o efeito do solvente na síntese destes compostos tricíclicos.

A reação de **2.8b** com 2 eq. de *N*-metilpiperazina foi realizada em solução aquosa de NaHCO<sub>3</sub> 0,02 M, recuperando-se o 2-imino-2*H*-cromeno **2.8b** de partida (Tabela 2.9, entrada 2). A insolubilidade deste composto na solução aquosa de NaHCO<sub>3</sub> 0,02 M poderá ser a razão pela qual a reação não aconteceu.



Na reação de **2.8b** com 2 eq. de *N*-metilpiperazina em THF, foi isolado o produto **2.11b**, com um rendimento de apenas 20% (Esquema 2.14 e tabela 2.9, entrada 3).



**Esquema 2.14** – Reação de **2.8b** com 2 eq. de *N*-metilpiperazina em THF.

Ao comparar os rendimentos das reações nos diferentes solventes (Tabela 2.9), concluiu-se que a formação do produto tricíclico é claramente favorecida com o uso de etanol.

**Tabela 2.9** - Reação do 2-(amino(2-imino-8-metil-2*H*-cromen-3-il)metileno)malononitrilo **2.8b** com 2 eq. de *N*-metilpiperazina em diferentes solventes.

Entrada	Solvente	Produto ( $\eta$ )
1	Etanol	<b>2.11b</b> (78%)
2	sol. aq. NaHCO <sub>3</sub> 0,02 M	<b>2.8b</b> (90%)
3	THF	<b>2.11b</b> (20%)

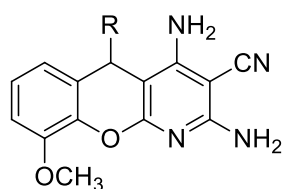
No seguimento da síntese dos 2,4-diamino-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilos **2.11**, foram realizadas reações do iminocromeno **2.8c** com outras aminas secundárias cíclicas e os resultados estão resumidos na tabela 2.10.

Quando se realizou a reação de 2-(amino(2-imino-8-metoxi-2*H*-cromen-3-il)metileno)malononitrilo **2.8c** com pirrolidina (Tabela 2.10, entrada 1), obteve-se um produto não identificado, para o qual, por <sup>1</sup>H RMN, não se observam os sinais esperados relativos aos prótons dos grupos NH<sub>2</sub>. No espectro de <sup>1</sup>H RMN deste produto surgiram ainda dois singletos, integrando para 1 próton, a  $\delta$  4,36 e 5,85 ppm, enquanto nos produtos pretendidos sintetizados por reação com outras aminas apenas se observa a presença de um único singlete entre  $\delta$  4,86 e 5,02 ppm.

Nas reações com piperidina e com 4-(1-piperazino)fenol, obteve-se em ambos os casos o produto **2.12** pretendido contaminado com a respectiva amina de partida (Tabela 2.10, entrada 2 e 7).

A reação de **2.8c** com a 1-(2-aminoetil)piperazina gerou uma mistura complexa não identificável, por  $^1\text{H}$  RMN. A mistura obtida deve-se provavelmente aos vários pontos reativos desta amina, que na reação com **2.8c** poderá seguir diferentes caminhos reacionais (Tabela 2.10, entrada 4).

**Tabela 2.10** – Síntese de estruturas tricíclicas **2.12** por reação de **2.8c** com 5 eq. de outras aminas secundárias cíclicas em etanol à temperatura ambiente.



**2.12a-i**

Entrada	R = Amina secundária cíclica	Tempo reacional	Produto(s) ( $\eta$ )
1		95 h	a)
2		26 h 45 min	<b>2.12a</b> + Amina de partida
3		21 h 10 min	<b>2.12b</b> (63%)
4		25 h 35 min	Mistura complexa, por $^1\text{H}$ RMN
5		26 h 40 min	<b>2.12c</b> (58%)
6		23 h 20 min	<b>2.12d</b> (42%)
7		22 h 20 min	<b>2.12e</b> + Amina de partida
8		26 h 50 min	<b>2.12f</b> (84%)
9		23 h 10 min	<b>2.12g</b> (84%)
10		39 h 15 min	<b>2.12h</b> (74%)
11		23 h	<b>2.12i</b> (79%)

a) Produto não identificado.

As reações de **2.8c** com as restantes aminas apresentadas na tabela 2.10, ocorreram normalmente, isolando-se os respetivos produtos **2.12** puros e na generalidade, com bons rendimentos.

A reação do 2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromen-3-il)metileno)malononitrilo **2.8c** com outras aminas primárias e secundárias acíclicas também foi testada e os resultados obtidos estão resumidos na tabela 2.11.

A reação do 2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromen-3-il)metileno)malononitrilo **2.8c** com a dietilamina, gerou o produto o pretendido **2.12j**, isolado com um rendimento de 32% (Tabela 2.11, entrada 1). Após repetir o espetro de  $^1\text{H}$  RMN, em DMSO- $d_6$ , verificou-se que o composto estava em evolução para um conjunto de produtos. Foi possível identificar a presença do produto **2.10** pelo aparecimento de um singlete a  $\delta$  5,80 ppm e pelo aumento dos sinais dos prótons do grupo etoxilo. Esta evolução poderá estar a acontecer devido à presença de etanol na solução de DMSO- $d_6$ .

Na reação de **2.8c** com a dicitlohexilamina, obteve-se o produto **2.10**, juntamente com a dicitlohexilamina de partida (Tabela 2.11, entrada 2). A razão pela qual a amina secundária não foi incorporada no produto poderá resultar do elevado impedimento estereoquímico causado pelos substituintes volumosos da amina (Figura 2.4).

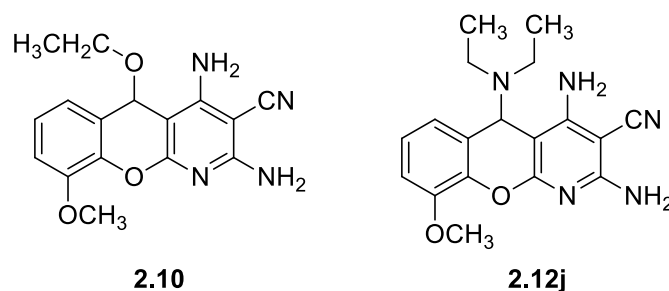


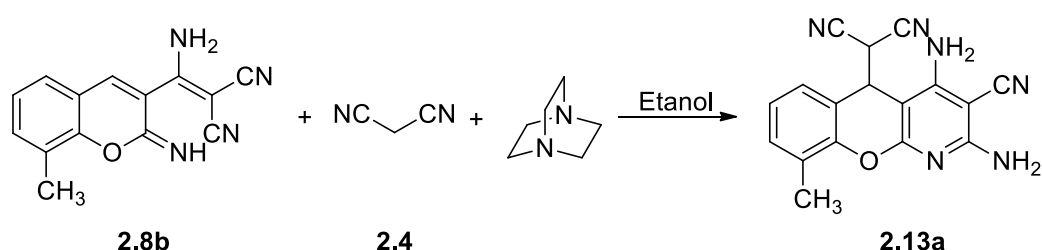
Figura 2.4 – Estruturas dos compostos **2.10** e **2.12j**.

Tabela 2.11 – Reação de **2.8c** com outras aminas primárias e secundárias acíclicas em etanol à temperatura ambiente.

Entrada	Amina primária/secundária	Tempo reacional	Produto(s) ( $\eta$ )
1	<chem>CCNCC</chem>	28 h 30 min	<b>2.12j</b> (32%)
2	<chem>C1CCCCC1N(C2CCCCC2)C3CCCCC3</chem>	48 h 20 min	<b>2.10</b> + Amina de partida
3	<chem>Cc1cc(N)cc(C)c1</chem>	71 h	Mistura complexa, por $^1\text{H}$ RMN

Quando a reação foi realizada com a 3,5-dimetilanilina, obteve-se uma mistura complexa não identificável por  $^1\text{H}$  RMN em  $\text{DMSO-d}_6$  (Entrada 2.11, entrada 3). Esta mistura de produtos poderá significar que a reação com aminas primárias segue diferentes caminhos reacionais, nas condições experimentais usadas.

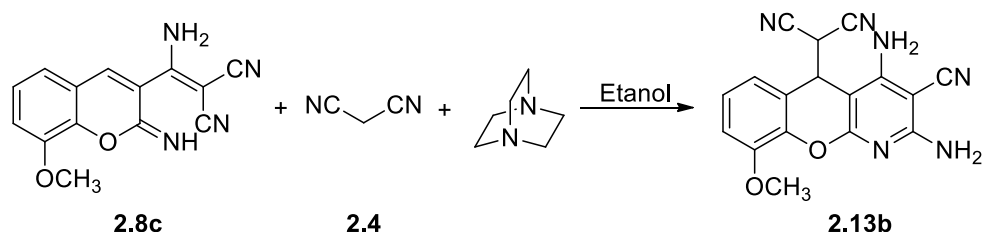
A síntese de compostos 2,4-diamino-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo 5-substituídos por nucleófilos de carbono foi igualmente estudada. A reação de **2.8b** com 1 eq. de malononitrilo **2.4** em etanol, na presença de DABCO, à temperatura ambiente gerou o 2-(2,4-diamino-3-ciano-9-metil-5,10*a*-dihidro-4*aH*-cromeno[2,3-*b*]piridin-5-il)malononitrilo **2.13a**, isolado com um rendimento de 72% (Esquema 2.15).



**Esquema 2.15** – Síntese de 2-(2,4-diamino-3-ciano-9-metil-5,10*a*-dihidro-4*aH*-cromeno[2,3-*b*]piridin-5-il)malononitrilo **2.13a**.

A reação de malononitrilo com **2.8c** originou igualmente o 2-(2,4-diamino-3-ciano-9-metil-5,10*a*-dihidro-4*aH*-cromeno[2,3-*b*]piridin-5-il)malononitrilo **2.13b** correspondente, isolado com um rendimento de 79% (Esquema 2.16).

Quando se realizou a reação de **2.8b** com outros compostos de metileno ativado (dímero do malononitrilo, cianoacetato de etilo e cianoacetamidas substituídas), nas mesmas condições experimentais, não foi possível isolar os produtos pretendidos puros (Tabela 2.12, entradas 1, 4, 6 e 7). Na tentativa de otimizar o processo de síntese, foram testadas outras condições reacionais, descritas na tabela 2.12 (Entradas 2, 3 e 5), mas sem os resultados esperados.



**Esquema 2.16** - Síntese do 2-(2,4-diamino-3-ciano-9-metil-5,10*a*-dihidro-4*aH*-cromeno[2,3-*b*]piridin-5-il)malononitrilo **2.13b**.

Na reação de **2.8b** com o 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5**, à temperatura ambiente, obteve-se uma mistura de pelo menos três produtos não identificados. Para o produto principal, o espectro de  $^1\text{H}$  RMN mostra dois dupletos a  $\delta$  3,81 e 4,74 ppm, que integram para 1 próton, dois singletos a  $\delta$  6,71 e 6,90 ppm, que integram para 2 prótons e que devem corresponder a dois grupos  $\text{NH}_2$ , e ainda dois singletos a  $\delta$  8,96 e 8,98 ppm, que integram para 1 próton e podem ser atribuídos a um grupo  $\text{NH}_2$  em que os dois prótons não são equivalentes. Estes sinais no espectro de  $^1\text{H}$  RMN parecem indicar a presença do produto **2.7**, análogo ao produto **2.13** mas com substituição, na posição 5, pela unidade de dímero **2.5** (Figura 2.4 e tabela 2.12, entrada 1). A mesma mistura de produtos foi obtida quando a reação de **2.8b** com o dímero **2.5** foi realizada em banho de gelo durante 64 horas (Tabela 2.12, entrada 3).

Quando se fez reagir o 2-(amino(2-imino-8-metil-2H-cromen-3-il)metileno) malononitrilo **2.8b** com o dímero **2.5**, durante 23 horas em banho de gelo, obteve-se a mesma mistura de pelo menos três produtos não identificados, contendo também **2.7** e ainda o 2-imino-2H-cromeno **2.8b** de partida (Tabela 2.12, entrada 2 e figura 2.5).

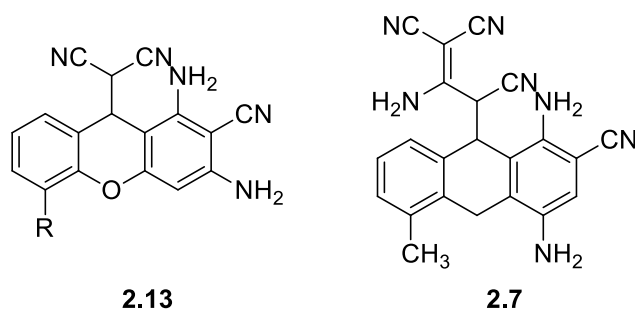


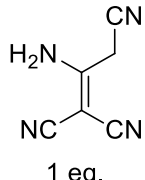
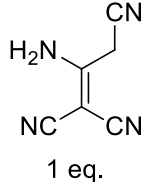
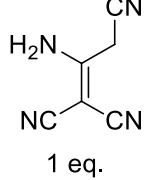
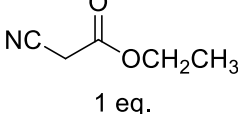
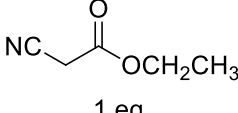
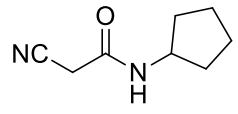
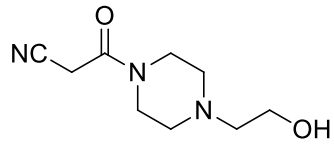
Figura 2.5 – Estrutura dos compostos **2.13** e **2.7**.

A reação de **2.8b** com cianoacetato de etilo, à temperatura ambiente na presença de DABCO, ou em banho de gelo na presença de trietilamina gerou, em ambos os casos uma mistura de pelo menos dois produtos não identificados, por  $^1\text{H}$  RMN (Tabela 2.12, entradas 4 e 5).

Nas reações de **2.8b** com cianoacetamidas substituídas, à temperatura ambiente, obteve-se sempre uma mistura complexa não identificável por  $^1\text{H}$  RMN (Tabela 2.12, entradas 6 e 7).

O principal impedimento para a obtenção de produtos puros nestas reações poderá ser a existência de mais de uma possibilidade de reação nos compostos de metileno ativado, que fará com que o processo siga diferentes caminhos, obtendo-se uma mistura complexa de produtos.

Tabela 2.12 – Reação de **2.8b** com outros compostos de metileno ativado em etanol.

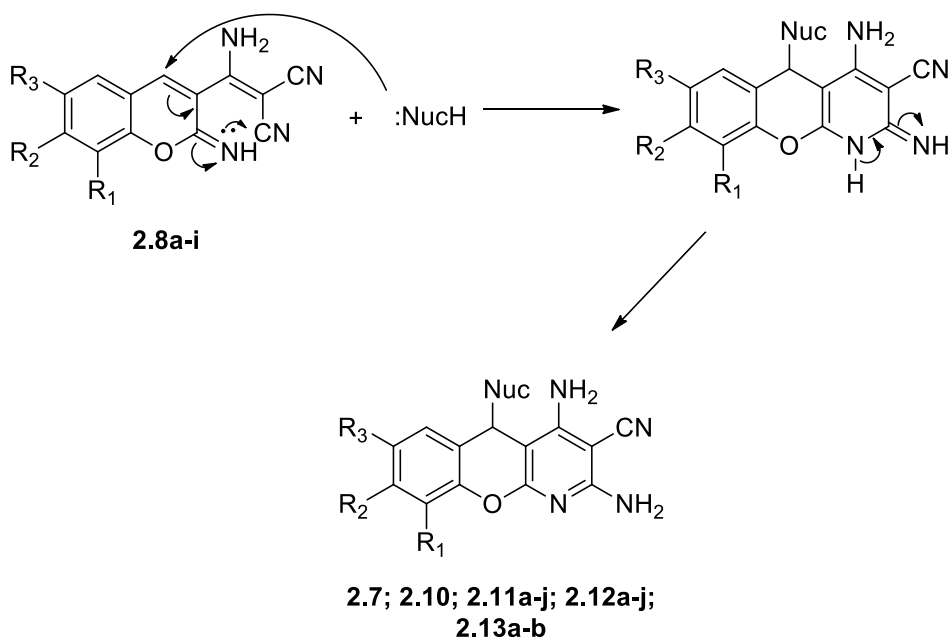
Entrada	Composto de metileno ativado	Condições reacionais	Produto(s)
1	 1 eq.	0,9 eq. DABCO; t.a.; 20 h	a)
2	 1 eq.	0,9 eq. DABCO; 0°C; 23 h	a) + <b>2.8b</b>
3	 1 eq.	0,9 eq. DABCO; 0°C; 64 h	a)
4	 1 eq.	0,9 eq. DABCO; t.a.; 64 h	b)
5	 1 eq.	1 eq. NEt <sub>3</sub> ; Banho de gelo; 4 h 30 min	b)
6	 2 eq.	t.a.; 19 h 30 min	Mistura complexa, por <sup>1</sup> H RMN
7	 2 eq.	t.a.; 19 h 30 min	Mistura complexa, por <sup>1</sup> H RMN

a) Mistura de pelo menos três compostos, com sinais que parecem indicar a presença do produto **2.7** pretendido, por <sup>1</sup>H RMN.

b) Mistura de pelo menos dois produtos não identificados, por <sup>1</sup>H RMN.

O mecanismo proposto para a formação de todos os 2,4-diamino-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilos **2.7**, **2.10**, **2.11**, **2.12** e **2.13** anteriormente obtidos deve iniciar-se por ataque nucleofílico ao carbono C<sub>4</sub> do 2-imino-2H-cromeno pelo respetivo nucleófilo. O aumento da densidade eletrónica sobre o átomo de nitrogénio da função imina deve acelerar a ciclização intramolecular, por ataque nucleofílico deste grupo ao carbono do grupo ciano. Forma-se um intermediário tricíclico que não foi isolado mas

que deve evoluir rapidamente para a estrutura aromática, mais estável, após equilíbrio tautomérico rápido (Esquema 2.17).



**Esquema 2.17** – Proposta mecanística para a formação dos 2,4-diamino-5H-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilos 5-substituídos **2.7**, **2.10**, **2.11**, **2.12** e **2.13**.

### Caracterização espectroscópica

#### ▪ Espetroscopia de Infravermelho

Nos espectros de infravermelho de todos os 2,4-diamino-5H-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilos 5-substituídos sintetizados é de realçar a visualização das bandas de intensidade média-fracas entre 3495 e 3080 cm<sup>-1</sup>, correspondentes à vibração de estiramento da ligação N-H dos dois grupos amina. É possível observar ainda a banda de intensidade média entre 2209 e 2196 cm<sup>-1</sup>, correspondente à vibração de estiramento da ligação tripla do grupo ciano. Entre 1648 e 1561 cm<sup>-1</sup>, são visíveis as bandas de fraca-média intensidade correspondentes às vibrações de estiramento das ligações C=C.

No composto **2.11j** é de realçar a banda de intensidade média a 1763 cm<sup>-1</sup>, que confirma a presença do grupo carbonilo do éster.

Nos compostos **2.7** e **2.13** é observado apenas uma banda larga de intensidade média que corresponde à vibração de estiramento da ligação tripla dos grupos cianos.

**Tabela 2.13** - Dados espectroscópicos de IV (Nujol/cm<sup>-1</sup>) para os 2,4-diamino-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilos 5-substituídos.

Composto	4000-3000	C≡N	1800-1500
<b>2.7</b>	3485, 3358, 3246	2201	1645, 1539, 1561
<b>2.11a</b>	3453, 3370, 3310, 3179	2209	1642, 1606, 1566
<b>2.11b</b>	3329, 3281, 3088	2196	1632, 1586, 1568
<b>2.11c</b>	3480, 3412, 3316, 3167	2206	1619, 1588, 1562
<b>2.11d</b>	3452, 3344, 3295, 3181	2199	1625, 1601, 1561
<b>2.11e</b>	3424, 3314, 3188	2204	1648, 1613, 1590, 1565
<b>2.11f</b>	3433, 3343, 3173	2204	1648, 1619, 1568
<b>2.11g</b>	3456, 3327, 3199	2198	1622, 1610, 1582
<b>2.11h</b>	3426, 3315, 3187	2205	1646, 1616, 1563
<b>2.11i</b>	3427, 3313, 3191	2204	1643, 1616, 1561
<b>2.11j</b>	3439, 3311, 3195	2202	1763, 1637, 1611, 1567
<b>2.12a</b>	3477, 3423, 3321, 3168	2205	1634, 1618, 1563
<b>2.12b</b>	3479, 3419, 3315, 3172	2206	1621, 1589, 1562
<b>2.12c</b>	3477, 3423, 3323, 3185	2206	1621, 1590, 1562
<b>2.12d</b>	3477, 3427, 3327, 3164	2206	1621, 1590, 1563
<b>2.12e</b>	3486, 3388, 3285, 3175	2205	1621, 1582, 1562
<b>2.12g</b>	3488, 3424, 3325, 3172	2205	1620, 1587, 1561
<b>2.12h</b>	3477, 3331, 3165	2207	1622, 1590, 1563
<b>2.12i</b>	3478, 3429, 3325, 3165	2208	1621, 1589, 1562
<b>2.13a</b>	3495, 3459, 3373, 3284, 3250, 3167	2200	1641, 1594, 1567
<b>2.13b</b>	3459, 3367, 3335, 3244	2198	1644, 1599, 1561

#### ▪ Espetroscopia de <sup>1</sup>H RMN

Nos espectros de <sup>1</sup>H RMN dos 2,4-diamino-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilos 5-substituídos obtidos surge um singleto, que integra para um próton, a  $\delta$  4,84-5,02 ppm para os compostos **2.11a-j** e **2.12a-j** ou a  $\delta$  5,81 ppm para o produto **2.10**, atribuído ao próton H<sub>5</sub>. Nos compostos **2.13a-b** surgem dois dupletos, com uma constante de acoplamento de 4,4 Hz, a deslocamento químico  $\delta$  4,82 ppm e 4,90-4,91 ppm, que integram ambos para um próton, relativos ao próton H<sub>1'</sub> e H<sub>5</sub>, respetivamente.

No composto **2.7** surgem dois dupletos, com uma constante de acoplamento de 8,8 Hz, a deslocamento químico  $\delta$  3,84 ppm e 4,75 ppm, que integram, cada um, para um próton, referentes ao próton H<sub>5</sub> e H<sub>1'</sub>, respetivamente.

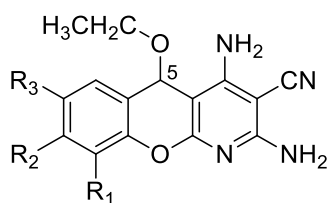
São também visíveis dois singletos atribuídos aos prótons dos grupos amina, a deslocamento químico  $\delta$  6,40-6,53 ppm e 6,45-6,60 ppm, integrando cada sinal para dois prótons, para os compostos **2.11a-j** e **2.12a-j**. Quando o produto incorpora o grupo etoxilo (composto **2.10**) os grupos amina



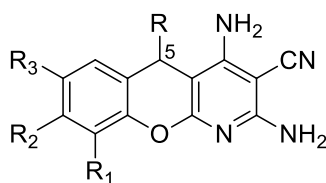
aparecem com deslocamentos químicos a  $\delta$  6,57 ppm e 6,67 ppm. Nos compostos **2.13a-b** os sinais dos prótons da amina aparecem a deslocamentos químicos de  $\delta$  6,65-6,71 ppm e 7,04 ppm.

No composto **2.7** os sinais dos prótons da amina aparecem a deslocamentos químicos de  $\delta$  6,65 e 6,90 ppm para os grupos amina do anel de piridina e 8,96 ppm para o grupo amina do substituinte na posição 5.

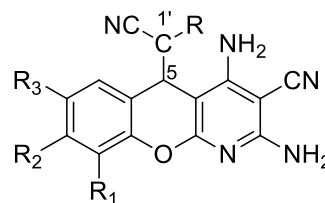
**Tabela 2.14** – Dados espectroscópicos de  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) dos sinais característicos para os 2,4-diamino-5-*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilos 5-substituídos **2.7**, **2.10**, **2.11**, **2.12** e **2.13**.



**2.10**



**2.11a-j; 2.12a-j**



**2.7; 2.13a-b**

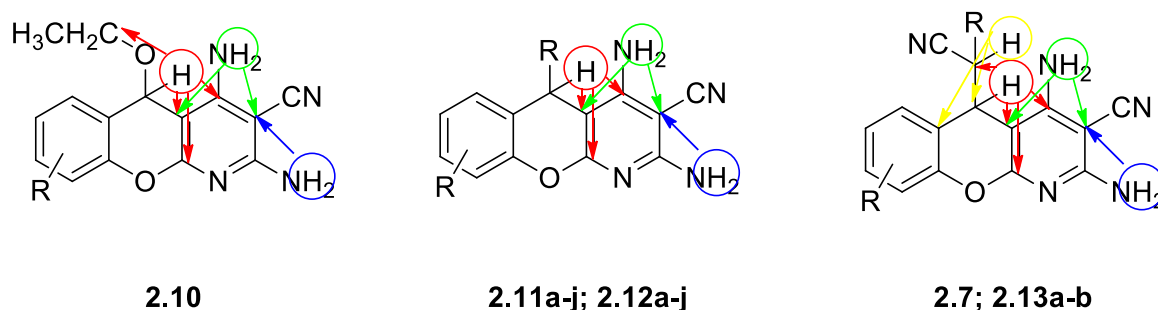
Composto	H <sub>5</sub>	H <sub>1'</sub>	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>
<b>2.7</b>	4,75 (d; J= 8,8Hz; 1H)	3,84 (d; J= 8,8Hz; 1H)	6,65 (s; 2H)	6,90 (s; 2H)
<b>2.10</b>	5,81 (s; 1H)	—	6,57 (s; 2H)	6,67 (s; 2H)
<b>2.11a</b>	4,94 (s; 1H)	—	6,47 (s; 2H)	6,52 (s; 2H)
<b>2.11b</b>	4,91 (s; 1H)	—	6,50 (s; 2H)	6,52 (s; 2H)
<b>2.11c</b>	4,92 (s; 1H)	—	6,45 (s; 2H)	6,51 (s; 2H)
<b>2.11d</b>	4,86 (s; 1H)	—	6,45 (s; 2H)	6,51 (s; 2H)
<b>2.11e</b>	4,88 (s; 1H)	—	6,44 (s; 2H)	6,50 (s; 2H)
<b>2.11f</b>	4,88 (s; 1H)	—	6,41 (s; 2H)	6,45 (s; 2H)
<b>2.11g</b>	4,84 (s; 1H)	—	6,40 (s; 2H)	6,45 (s; 2H)
<b>2.11h</b>	4,94 (s; 1H)	—	6,52 (s; 2H)	6,54 (s; 2H)
<b>2.11i</b>	4,94 (s; 1H)	—	6,53 (s; 2H)	6,54 (s; 2H)
<b>2.11j</b>	4,93 (s; 1H)	—	6,48 (s; 2H)	6,54 (s; 2H)
<b>2.12a</b>	4,87 (s; 1H)	—	6,44 (s; 2H)	6,47 (s; 2H)
<b>2.12b</b>	4,92 (s; 1H)	—	6,45 (s; 2H)	6,56 (s; 2H)
<b>2.12c</b>	4,91 (s; 1H)	—	6,44 (s; 2H)	6,50 (s; 2H)
<b>2.12d</b>	4,91 (s; 1H)	—	6,45 (s; 2H)	6,50 (s; 2H)
<b>2.12e</b>	5,01 (s; 1H)	—	6,48 (s; 2H)	6,60 (s; 2H)
<b>2.12f</b>	5,01 (s; 1H)	—	6,47 (s; 2H)	6,57 (s; 2H)
<b>2.12g</b>	5,01 (s; 1H)	—	6,47 (s; 2H)	6,57 (s; 2H)
<b>2.12h</b>	5,02 (s; 1H)	—	6,48 (s; 2H)	6,59 (s; 2H)
<b>2.12i</b>	5,02 (s; 1H)	—	6,48 (s; 2H)	6,59 (s; 2H)
<b>2.12j</b>	5,00 (s; 1H)	—	6,41 (s; 2H)	6,47 (s; 2H)
<b>2.13a</b>	4,90 (d; J= 4,4Hz; 1H)	4,82 (d; J= 4,4Hz; 1H)	6,71 (s; 2H)	7,04 (s; 2H)
<b>2.13b</b>	4,91 (d; J= 4,4Hz; 1H)	4,82 (d; J= 4,4Hz; 1H)	6,65 (s; 2H)	7,04 (s; 2H)

Na tabela 2.14 são apresentados os valores de desvio químico dos sinais que permitem identificar que o produto sintetizado é um 2,4-diamino-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 5-substituída.

#### ▪ Espectroscopia de $^{13}\text{C}$ RMN

Nos espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN dos compostos tricíclicos surge um sinal, referente ao carbono  $\text{C}_5$ , a deslocamento químico  $\delta$  65,69 ppm, quando o substituinte é o grupo etoxilo (**2.7**), a  $\delta$  54,14-55,71 ppm, quando o substituinte é uma amina (**2.10** e **2.11**), e a  $\delta$  34,74-36,51 ppm, quando o substituinte é um nucleófilo de carbono (**2.12** e **2.13**). A  $\delta$  86,19-88,15 ppm foi identificado o carbono  $\text{C}_{4a}$ , quando o substituinte em  $\text{C}_5$  é uma amina, o grupo etoxilo ou uma unidade de dímero **2.5**. A presença de maloninitrilo **2.4** nesta posição do anel resulta num sinal de  $\text{C}_5$  a  $\delta$  83,70-83,88 ppm. O carbono  $\text{C}_{10a}$  é visível a  $\delta$  158,05-159,93 ppm, nos compostos em que o substituinte é a amina ou o grupo etoxilo. Quando o substituinte no anel é um nucleófilo de carbono  $\text{C}_{10a}$  é visível a  $\delta$  156,92-156,95 ppm. O sinal com deslocamento químico a cerca de  $\delta$  70,35-71,01 ppm foi atribuído ao carbono  $\text{C}_3$ .

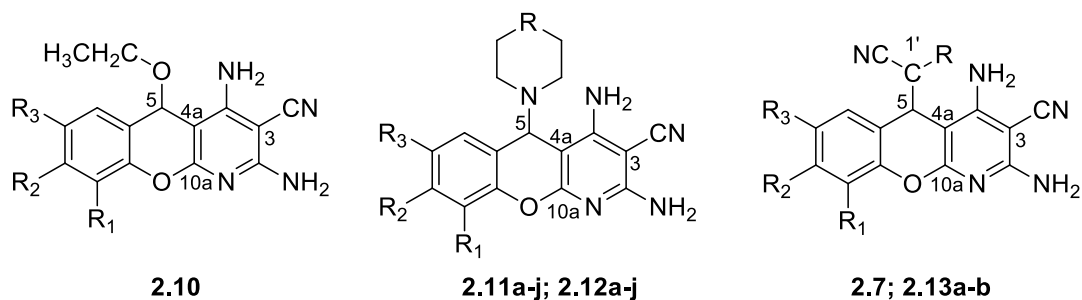
Estas atribuições foram confirmadas por HMQC e HMBC (Figura 2.6), sendo possível identificar a interação a três ligações do próton  $\text{H}_5$  aos carbonos  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_{10a}$  e  $\text{C}_{1'}$  (**2.10**), assim como a interação a duas ligações aos carbonos  $\text{C}_{4a}$  e  $\text{C}_{1'}$  (**2.13a-b**; **2.7**). Foi possível identificar também, a interação a três ligações dos prótons do grupo amina na posição 4 aos carbonos  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_{4a}$ . Os prótons do grupo amina na posição 2, interagem a três ligações com o carbono  $\text{C}_3$ . Nos compostos **2.12a-b**, é possível identificar a interação dos prótons do carbono  $\text{C}_{1'}$  aos carbonos  $\text{C}_{4a}$  e  $\text{C}_{5a}$ , a três ligações, e ao carbono  $\text{C}_5$ , a duas ligações.



**Figura 2.6** - Interações que possibilitam a atribuição dos principais sinais de  $^{13}\text{C}$  RMN, por HMBC, dos compostos **2.7**, **2.10**, **2.11**, **2.12** e **2.13**.

Na tabela 2.15 são identificados os sinais de  $^{13}\text{C}$  RMN que comprovam a síntese destas estruturas tricíclicas.

**Tabela 2.15** – Dados espectroscópicos de  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) dos sinais característicos para os 2,4-diamino-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilos 5-substituídos **2.7**, **2.10**, **2.11**, **2.12** e **2.13**.



Composto	C <sub>3</sub>	C <sub>4a</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>10a</sub>	C-NH <sub>2</sub>	C <sub>1'</sub>
<b>2.7</b>	70,80	86,19	36,51	161,50	157,39; 160,33	41,10
<b>2.10</b>	70,35	86,98	65,69	158,38 ou 159,79	158,38 ou 159,79; 160,22	—
<b>2.11a</b>	70,82	87,87	54,41	158,12	159,84; 160,53	—
<b>2.11b</b>	70,86	87,89	54,67	158,17	159,94; 160,65	—
<b>2.11c</b>	70,87	87,87	54,56	158,14	159,83; 160,56	—
<b>2.11d</b>	70,90	88,15	54,14	158,17	159,79; 160,50	—
<b>2.11e</b>	70,76	87,90	45,63	158,15	159,82; 160,65	—
<b>2.11f</b>	70,85	87,67	54,96	158,25	159,88; 160,80	—
<b>2.11g</b>	70,59	87,57	54,73	158,12	159,75; 160,83	—
<b>2.11h</b>	71,01	87,26	54,25	158,14	159,93; 160,25	—
<b>2.11i</b>	70,99	87,28	54,15	159,92	158,12; 160,18	—
<b>2.11j</b>	70,91	87,29	54,49	158,15	159,91; 160,49	—
<b>2.12b</b>	70,81	87,48	54,79	160,68	158,05; 159,87	—
<b>2.12c</b>	70,86	87,86	54,57	158,12	159,81; 160,55	—
<b>2.12d</b>	70,83	87,83	55,71	158,09	159,79; 160,54	—
<b>2.12e</b>	70,89	87,72	54,82	158,09	159,89; 160,64	—
<b>2.12g</b>	70,86	87,72	54,54	158,11	159,88; 160,64	—
<b>2.12h</b>	70,86	87,66	54,55	158,10	159,91; 160,66	—
<b>2.12i</b>	70,94	87,76	54,68	158,17	159,96; 160,72	—
<b>2.13a</b>	70,52	83,88	34,81	156,95	160,45; 160,48	30,40
<b>2.13b</b>	70,51	83,70	34,74	156,92	160,36; 160,36	30,28

O espectro de  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) e de  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) do 2,4-diamino-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo **2.11b** é apresentado na figura 2.7, como exemplo dos espectros registrados para os compostos tricíclicos 5-substituídos por etoxilo e aminas.

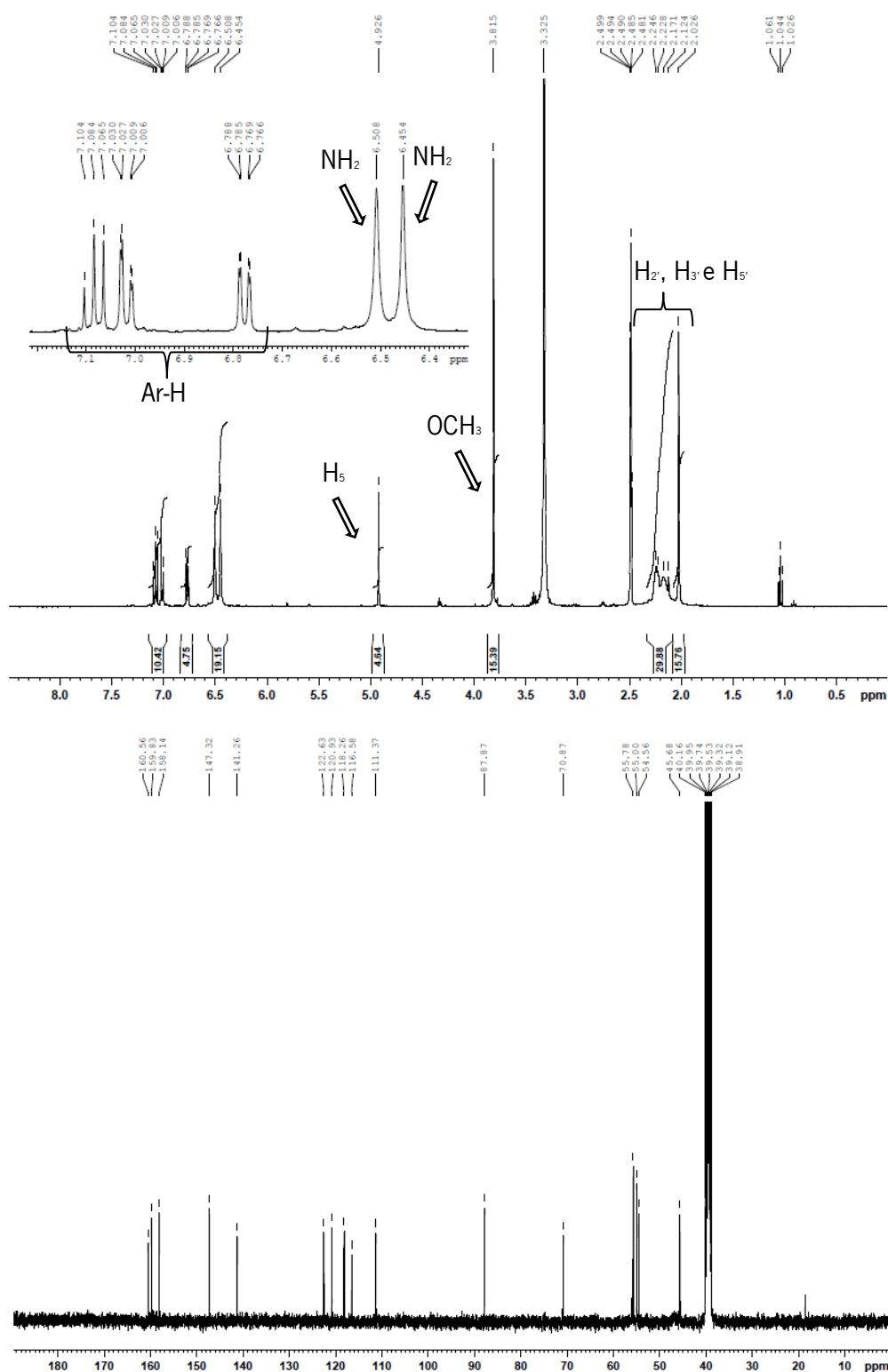


Figura 2.7 - Espectro de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C RMN do 2,4-diamino-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo **2.11b**.

O espectro de <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) e de <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) do 2-(2,4-diamino-3-ciano-9-metil-5,10*a*-dihidro-4*a*H-cromeno[2,3-*b*]piridin-5-il)malononitrilo **2.13a** é apresentado na figura

2.8, como exemplo dos espectros registados para os compostos tricíclicos 5-substituídos por nucleófilos de carbono. .

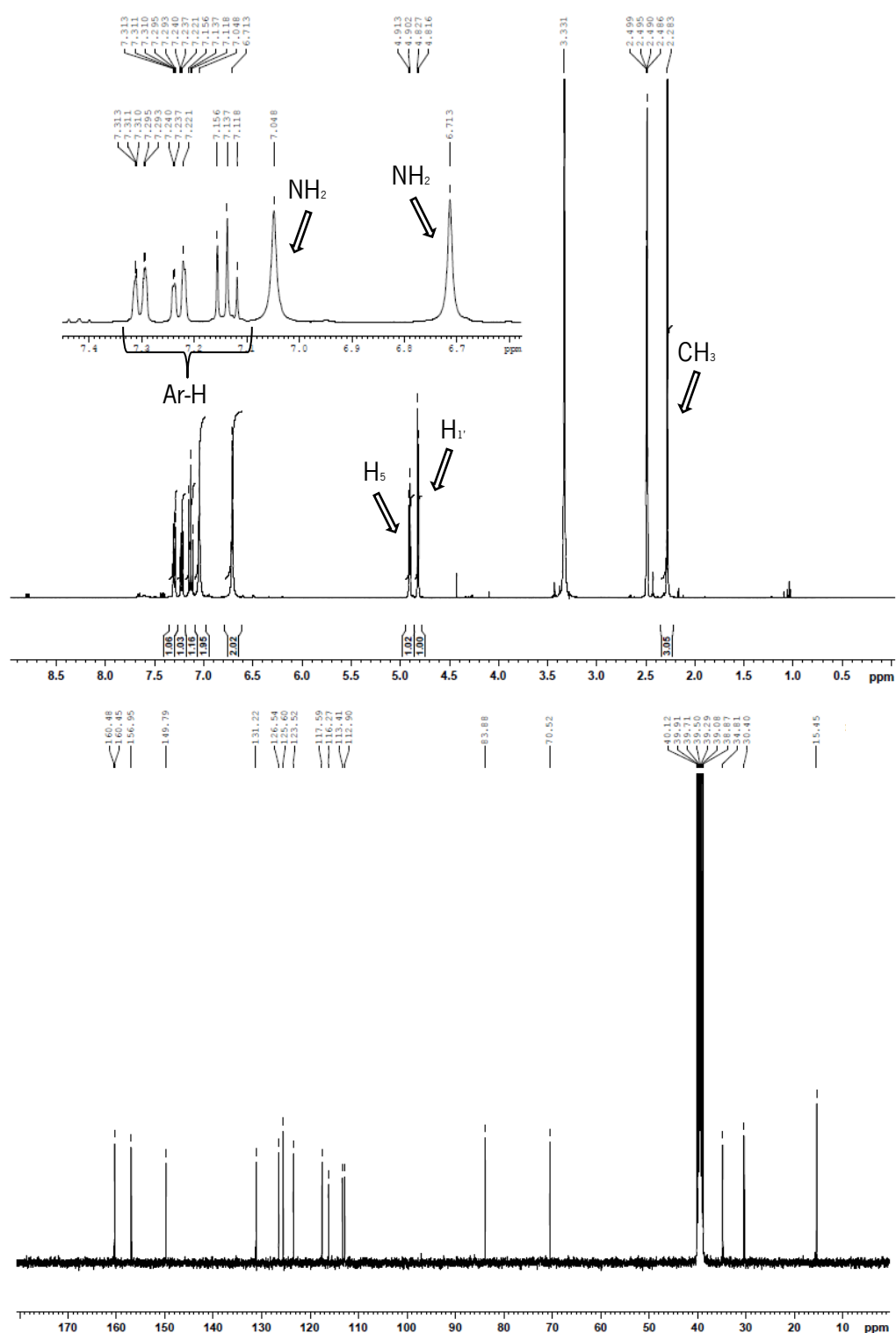
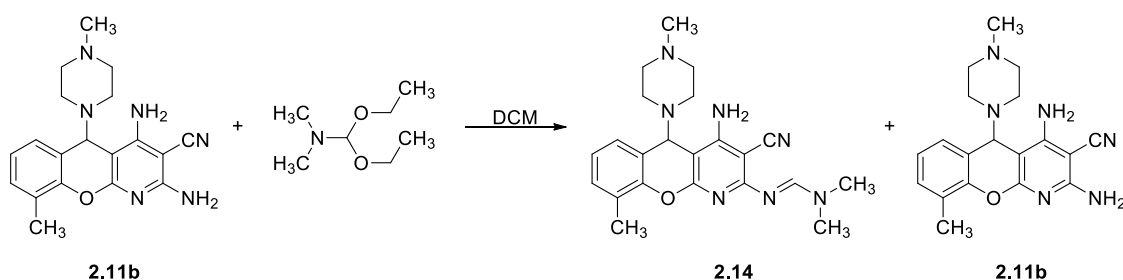


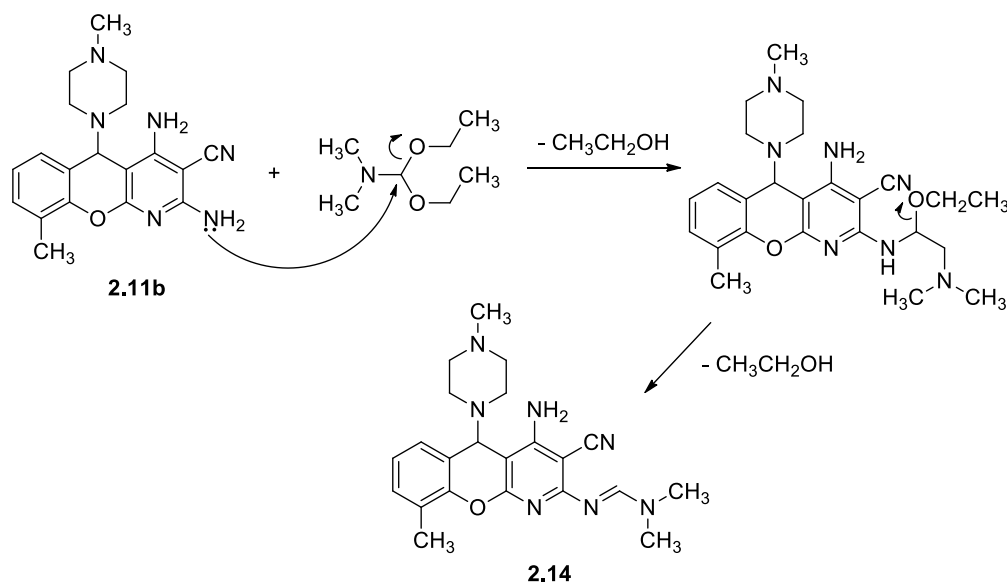
Figura 2.8 - Espectro de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C RMN do 2-(2,4-diamino-3-ciano-9-metil-5,10-dihidro-4*H*-cromeno[2,3-*b*]piridin-5-il)malononitrilo **2.13a**.

Com o objetivo de obter um precursor para um composto tetracíclico, realizou-se a reação de 2,4-diamino-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo **2.11b** em DCM, à temperatura ambiente, com 1,2 eq. de DMFDEA, adicionando 0,6 eq. no início da reação e 0,6 eq. após 1 hora. Numa primeira fração isolou-se o reagente de partida e só na segunda fração se identificou o produto pretendido, a *N*-(4-amino-3-ciano-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridin-2-il)-*N,N*-dimetilformimidamida **2.14** contaminada com o composto de partida **2.11b** na proporção de 2:1, respectivamente. (Esquema 2.18).



**Esquema 2.18** – Reação de 2,4-diamino-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo **2.11b** com DMFDEA em DCM, à temperatura ambiente.

O mecanismo proposto para a formação de **2.14** envolve o ataque nucleofílico do átomo de nitrogénio ao carbono do grupo CH da DMFDEA, seguido da eliminação de etanol. O intermediário tetraédrico elimina mais uma unidade de etanol, formando a formimidamida e gerando assim o composto pretendido (Esquema 2.19).



**Esquema 2.19** – Proposta mecanística para formação *N*-(4-amino-3-ciano-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridin-2-il)-*N,N*-dimetilformimidamida **2.14**.

### Caracterização espectroscópica

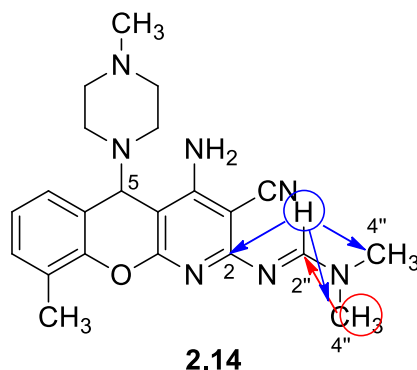
#### ▪ Espetroscopia de $^1\text{H}$ RMN

No espectro de  $^1\text{H}$  RMN é visível um singlete, integrando para um próton, a  $\delta$  4,98 ppm, atribuído ao próton  $\text{H}_5$ . A  $\delta$  3,02 e 3,11 ppm, aparecem dois singletos, integrando cada um para três prótons, atribuído aos prótons  $\text{H}_{4''}$  dos grupos metilo. A  $\delta$  8,48 ppm, surge um singlete, que integra para um próton, atribuído ao próton  $\text{H}_{2''}$ . Os prótons do grupo amina, são visíveis a  $\delta$  6,51 ppm, como um singlete, integrado para dois prótons.

#### ▪ Espetroscopia de $^{13}\text{C}$ RMN

No espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN é visível a presença de dois sinais relativos aos carbonos  $\text{C}_{4''}$  a  $\delta$  34,44 e 40,45 ppm. O sinal a  $\delta$  156,34 ppm foi atribuído ao carbono  $\text{C}_{2''}$ . A deslocamento químico  $\delta$  163,03 ppm surge o sinal do carbono  $\text{C}_2$ .

Estas atribuições foram confirmadas por HMQC e HMBC, sendo possível identificar a interação a três ligações do próton  $\text{H}_{2''}$  aos carbonos  $\text{C}_2$  e  $\text{C}_{4''}$ , assim como, a interação a três ligações dos prótons  $\text{H}_{4''}$  ao carbono  $\text{C}_{2''}$  (Figura 2.9).



**Figura 2.9** - Interações que possibilitam a atribuição dos principais sinais de  $^{13}\text{C}$  RMN, por HMBC, do composto **2.14**.

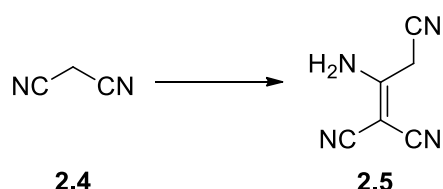
## 2.4 Outras sínteses

### 2.4.1 Síntese de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno

No decorrer deste projeto foi necessária a síntese de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5**, atendendo a que tinha terminado o reagente comercial. Nesse sentido, reproduziu-se um procedimento experimental otimizado no grupo de investigação<sup>[19]</sup> e fez-se reagir malononitrilo **2.4** em solução aquosa de NaHCO<sub>3</sub> 0,05 M. Obteve-se o produto pretendido **2.5** contaminado na proporção de 9:1 com um produto não identificado, isolado com um rendimento total de 31% (Tabela 2.16, entrada 1). Na tentativa de obter o 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** puro e com melhor rendimento, testaram-se as condições experimentais descritas na tabela 2.16, fazendo variar o tempo e a temperatura de reação. Foi possível melhorar a proporção de produto em relação ao contaminante (25:1) e o seu rendimento (56%) isolando o sólido ao fim de 139 horas a 18°C (tabela 2.16, entrada 9).

As experiências realizadas com o 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** sintetizado mostraram que a presença de contaminante não interferia na natureza e rendimento do produto. Verificou-se apenas que a utilização de dímero com uma proporção maior de contaminante, resultou no aparecimento de vestígios deste no espectro de <sup>1</sup>H RMN do produto isolado.

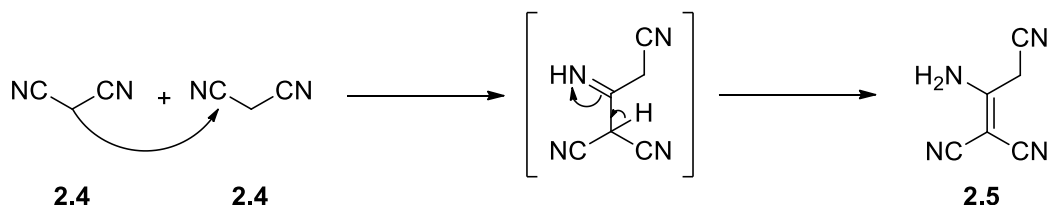
**Tabela 2.16** – Otimização das condições de síntese de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5**.



Entrada	Condições reacionais	Produto(s) (η)
1	Sol. aq. NaHCO <sub>3</sub> 0,05M; t.a.; 29 h	<b>2.5</b> + contaminante (9:1) (31%)
2	Sol. aq. NaHCO <sub>3</sub> 0,05M; t.a.; 77 h	<b>2.5</b> + contaminante (18:1) (68%)
3	Sol. aq. NaHCO <sub>3</sub> 0,05M; 40°C; 4 h 20 min	<b>2.5</b> + contaminante (8:1) (40%)
4	Sol. aq. NaHCO <sub>3</sub> 0,02M; t.a.; 49 h	<b>2.5</b> + contaminante (19:1) (53%)
5	Sol. aq. NaHCO <sub>3</sub> 0,02M; t.a.; 112 h	<b>2.5</b> + contaminante (20:1) (65%)
6	Sol. aq. NaHCO <sub>3</sub> 0,02M; t.a.; 219 h	<b>2.5</b> + contaminante (13:1) (75%)
7	Sol. aq. NaHCO <sub>3</sub> 0,02M; 0°C; 65 h	<b>2.5</b> + contaminante (9:1) (18%)
8	Sol. aq. NaHCO <sub>3</sub> 0,02M; 5°C; 115 h	<b>2.5</b> + contaminante (10:1) (32%)
9	Sol. aq. NaHCO <sub>3</sub> 0,02M; 18°C; 139 h	<b>2.5</b> + contaminante (25:1) (56%)
10	Sol. aq. NaHCO <sub>3</sub> 0,02M; 40°C; 6 h 30 min	<b>2.5</b> + contaminante (8:1) (31%)



O mecanismo desta reação envolve o ataque nucleofílico do carbono metilénico de uma unidade de malononitrilo ao carbono do grupo ciano de outra unidade de malononitrilo, seguido-se de um equilíbrio tautomérico rápido para gerar o grupo amina e a dupla ligação, obtendo-se assim o 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** (Esquema 2.20).



**Esquema 2.20** – Proposta mecanística para a formação do 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5**.

### Caracterização espectroscópica

#### ▪ Espetroscopia de Infravermelho

Nos espectros de infravermelho deste composto é possível identificar as bandas de intensidade média-forte, correspondentes a vibração de estiramento da ligação N-H do grupo amina, a 3342 e 3232  $\text{cm}^{-1}$ . As bandas de intensidade média, correspondentes à vibração de estiramento da ligação  $\text{C}\equiv\text{N}$ , são visíveis a 2265, 2220 e 2203  $\text{cm}^{-1}$ . A 1652 e 1552  $\text{cm}^{-1}$ , são visíveis as bandas de fraca-média intensidade correspondentes às vibrações de estiramento das ligações  $\text{C}=\text{C}$ .

#### ▪ Espetroscopia de $^1\text{H}$ RMN

No espectro de  $^1\text{H}$  RMN surge um singlete, integrando para dois prótons, a deslocamento químico  $\delta$  3,82 ppm, correspondente ao grupo  $\text{CH}_2$  do composto. Os prótons do grupo amina, são visíveis como dois sinais separados, integrado para 1 próton cada, a deslocamento químico de  $\delta$  8,96 e 9,00 ppm.

Os sinais do contaminante aparecem como singletos a deslocamentos químicos de  $\delta$  4,09, 7,29 e 7,47 ppm, na proporção de 1:1:1.

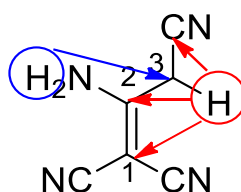
#### ▪ Espetroscopia de $^{13}\text{C}$ RMN

No espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN é visível o sinal a  $\delta$  22,18 ppm atribuído ao carbono do grupo metileno. A deslocamento químico de  $\delta$  164,79 ppm é visível o sinal atribuído ao carbono da dupla ligação ligado ao grupo amina. O sinal do carbono da dupla ligação ligado aos dois grupos ciano foi identificado a

deslocamento químico de  $\delta$  49,77 ppm. Os carbonos do grupo ciano são sinais visíveis a  $\delta$  114,26 e 115,38 ppm para os carbonos ligados à dupla ligação e  $\delta$  114,65 ppm para o carbono ligado ao grupo metileno.

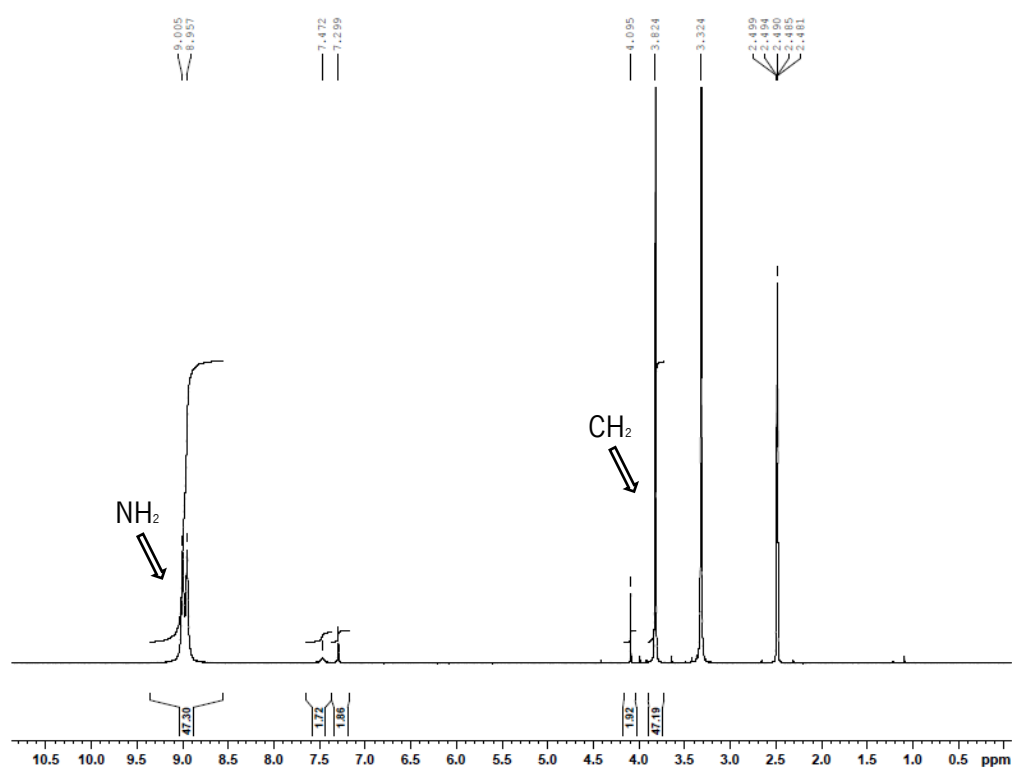
Os sinais identificados no  $^{13}\text{C}$  RMN como pertencendo à contaminação aparecem a deslocamentos químicos de  $\delta$  25,85, 70,97, 81,39, 114,54, 115,15, 116,42, 158,19, 158,85 e 161,54 ppm.

A confirmação das atribuições foi feita pelas técnicas de HMQC e HMBC, sendo possível verificar a interação a três ligações dos prótons do grupo metileno ao carbono  $\text{C}_3$ , assim como, a interação a 2 ligações ao carbono  $\text{C}_2$  e ao carbono do grupo ciano ligado a  $\text{C}_3$ . Foi possível ainda verificar a interação a três ligações dos prótons do grupo amina ao carbono  $\text{C}_3$  (Figura 2.10).



**Figura 2.10** - Interações que possibilitam a atribuição dos principais sinais de  $^{13}\text{C}$  RMN, por HMBC.

O espectro de  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) e de  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) do 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** é apresentado na figura 2.11.



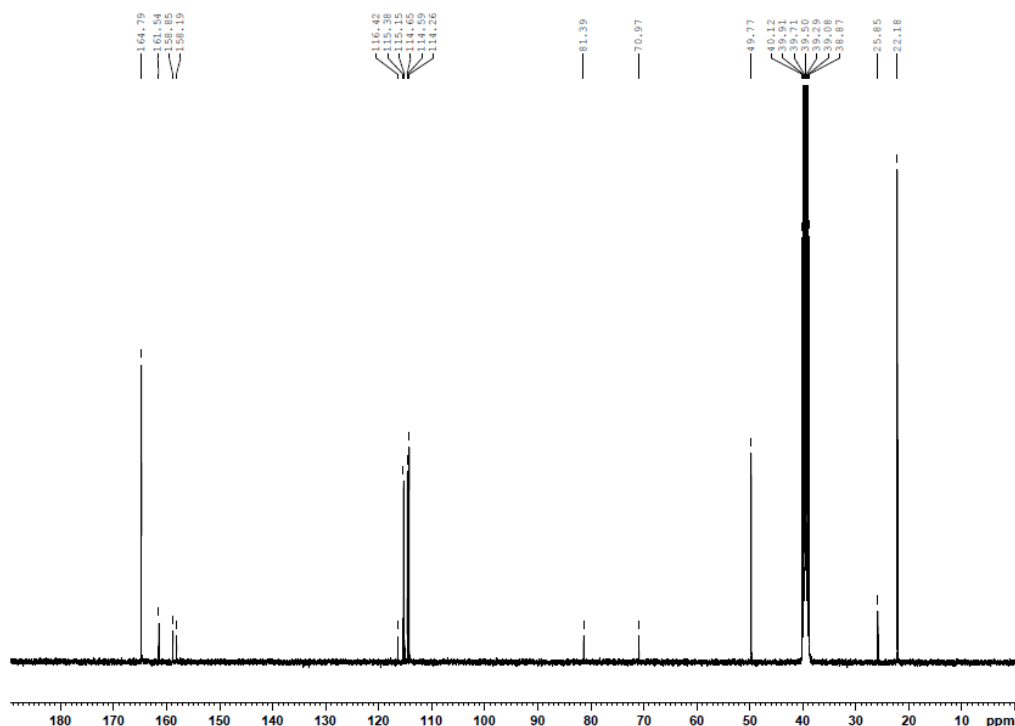
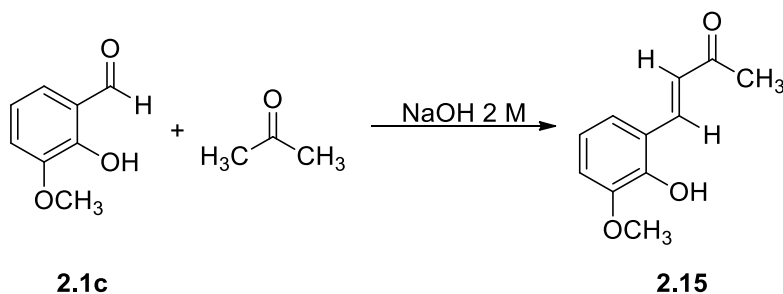


Figura 2.11 – Espetro de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN do 2-amino-1,1,3-tricianopropeno 2.5.

#### 2.4.1 Síntese do composto carbonílico $\alpha,\beta$ -insaturado

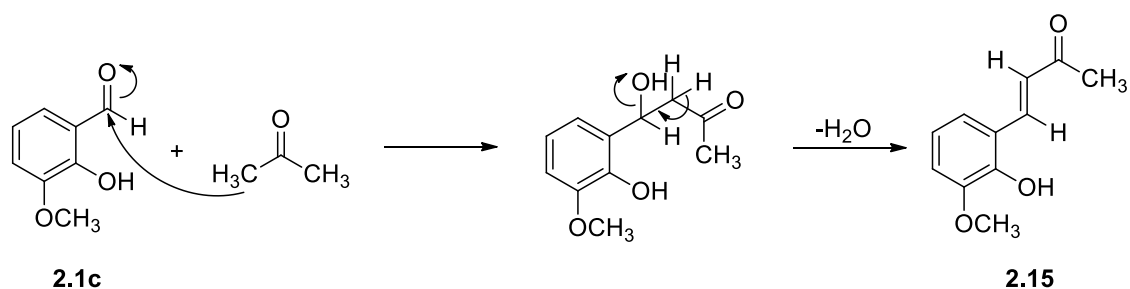
A reação de 3-metoxisalicilaldeído **2.1c** com acetona, em solução aquosa de NaOH 2 M, à temperatura ambiente, originou o composto (*E*)-4-(2-hidroxi-3-metoxifenil)but-3-en-2-ona **2.15**, isolado com um rendimento de 48 % (Esquema 2.21).

Este composto foi sintetizado para utilizar como reagente de partida para a formação de outros derivados de cromeno, mas tal não aconteceu, ficando a sua utilização em aberto para um trabalho futuro.



Esquema 2.21 – Reação de síntese da (*E*)-4-(2-hidroxi-3-metoxifenil)but-3-en-2-ona **2.15**.

O composto carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado forma-se por uma condensação aldólica, que envolve o ataque nucleofílico do anião do carbono  $sp^3$  da acetona ao carbono carbonílico do 3-metoxisalicilaldeído. Gerou-se um intermediário, que por libertação de água levou à formação do composto pretendido (Esquema 2.22).



**Esquema 2.22** – Proposta mecanística para a formação do (*E*)-4-(2-hidroxi-3-metoxifenil)but-3-en-2-ona 2.15.

#### Caracterização espectroscópica

##### ▪ Espectroscopia de Infravermelho

Nos espectros de infravermelho do composto foi possível identificar a banda intensa, correspondente à vibração de estiramento da ligação  $\text{C}=\text{O}$  do grupo carbonilo, a  $1625\text{ cm}^{-1}$ . A banda larga de intensidade fraca, correspondente a vibração de estiramento da ligação  $\text{O}-\text{H}$ , surge a  $3167\text{ cm}^{-1}$ . A  $1590\text{ cm}^{-1}$ , é visível a banda de fraca-média intensidade correspondente à vibração de estiramento da ligação  $\text{C}=\text{C}$ .

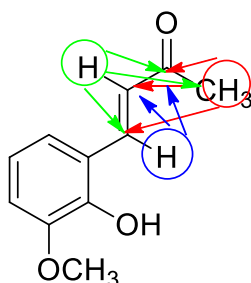
##### ▪ Espectroscopia de $^1\text{H}$ RMN

No espectro de  $^1\text{H}$  RMN é visível um singlete, integrando para três prótons, a  $\delta$  2,29 ppm, correspondente ao grupo metilo. A  $\delta$  6,78 é visível um duplete, com constante de acoplamento de 16,4 Hz, integrado para um próton, correspondente ao próton do carbono  $\alpha$  da ligação dupla. O duplete com a mesma constante de acoplamento surge a deslocamento químico de  $\delta$  7,79 ppm, corresponde ao próton do carbono  $\beta$ . O singlete, integrando para um próton, correspondente ao próton do grupo  $\text{OH}$ , é visível a  $\delta$  9,41 ppm.

### ▪ Espetroscopia de $^{13}\text{C}$ RMN

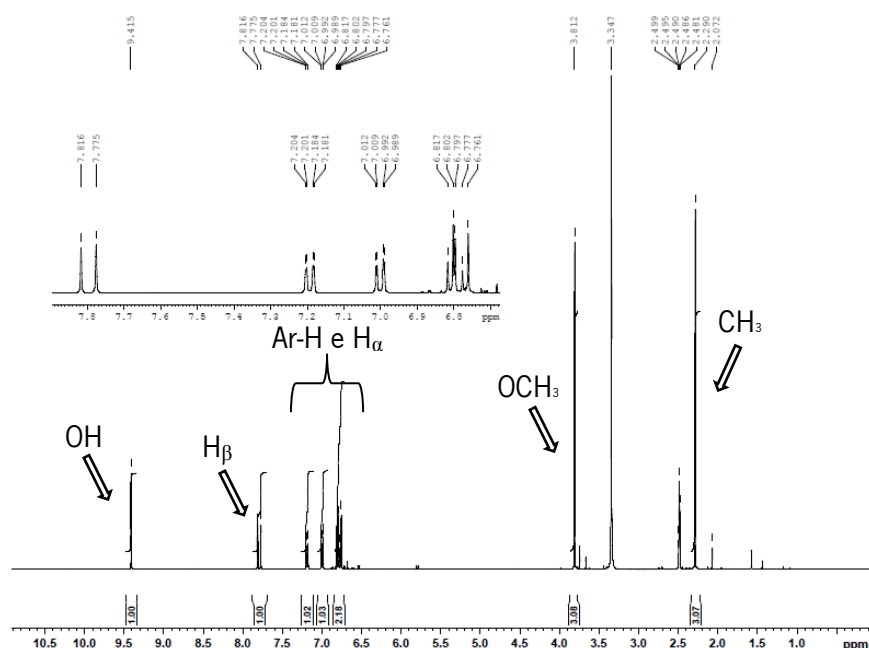
No espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN é visível o sinal a  $\delta$  27,41 ppm atribuído ao carbono do grupo metilo. A  $\delta$  198,12 ppm é visível o sinal atribuído ao carbono do grupo carbonilo. O sinal do carbono  $\alpha$  é identificado a deslocamento químico de  $\delta$  126,85 ppm. A  $\delta$  138,18 ppm é visível o sinal do carbono  $\beta$ .

As atribuições foram confirmadas por HMQC e HMBC, sendo possível verificar a interação a três ligações dos prótons do grupo metilo ao carbono  $\alpha$ , a duas ligações ao carbono carbonílico e a interação fraca, a quatro ligações, ao carbono  $\beta$ . O próton  $\alpha$ , apresenta interação a três ligações com o carbono do grupo metilo e interação a duas ligações com o carbono  $\beta$  e com o carbono do grupo carbonilo. O próton  $\beta$ , têm uma interação a três ligações com o carbono do grupo carbonilo e uma interação a duas ligações com o carbono  $\alpha$  (Figura 2.12).



**Figura 2.12** - Interações que possibilitam a atribuição dos principais sinais de  $^{13}\text{C}$  RMN, por HMBC, do composto **2.15**.

O espectro de  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) e de  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) da (*E*)-4-(2-hidroxi-3-metoxifenil)but-3-en-2-ona **2.15** é apresentado na figura 2.13.



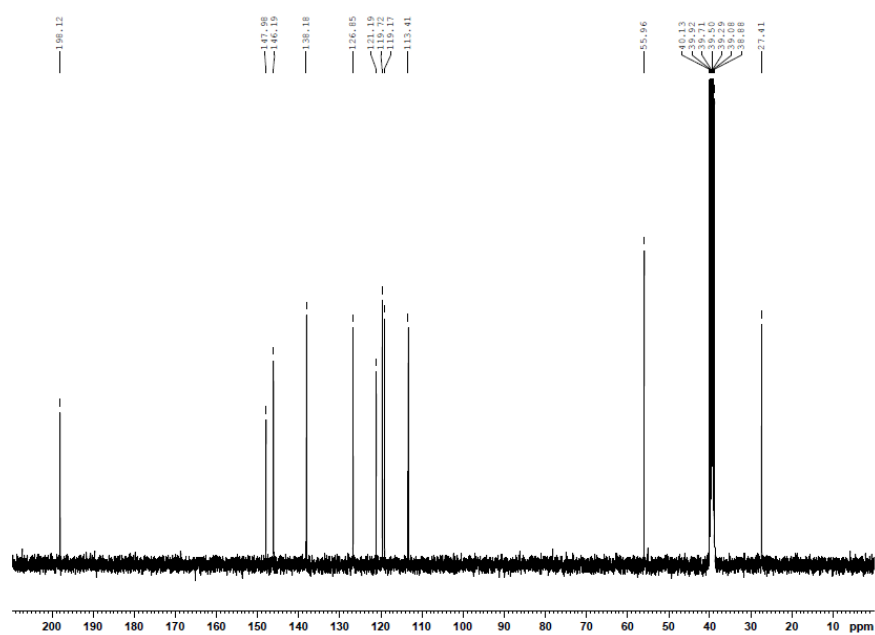


Figura 2.13 – Espectro de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN da  $(E)$ -4-(2-hidroxi-3-metoxifenil)but-3-en-2-ona 2.15

## 2.5 Ensaios de atividade biológica

Os ensaios de atividade biológica foram realizados no ICVS (Instituto de investigação em Ciências da Vida e da Saúde) pela Doutora Marta Costa e pela aluna de mestrado Sofia Pinto.

### *Screening* dos compostos

As células foram tratadas com os compostos a duas concentrações diferentes (10 e 30  $\mu\text{M}$ ) para todos os compostos e avaliadas quanto à viabilidade celular utilizando o ensaio Sulfurodamina B (SRB), no qual a proteína viável total foi quantificada através da biomassa celular total em células aderentes. Estas concentrações foram escolhidas com base nos resultados anteriores obtidos no grupo de investigação [20]. Após 72 horas de tratamento, a SRB incorporada em células viáveis foi medida e a percentagem de sobrevivência celular foi calculada (Tabela 2.17-2.19).

No primeiro *screening*, num conjunto de 12 compostos testados na linha celular MCF-7, os compostos **2.8b**, **2.8e** e **2.11e** apresentam atividade anticancerígena mais promissora, sendo selecionados para determinação do  $\text{IC}_{50}$  nesta linha celular (Tabela 2.17).

**Tabela 2.17** – *Screening* 1: Viabilidade celular para a linha celular MCF-7 após 72 horas de tratamento (10 e 30  $\mu\text{M}$ ).

Composto	Viabilidade celular (%)	
	10 $\mu\text{M}$	30 $\mu\text{M}$
<b>2.8a</b>	77,0	25,4
<b>2.8b</b>	43,7	20,7
<b>2.8c</b>	75,8	20,5
<b>2.8e</b>	60,9	21,1
<b>2.8g</b>	98,2	93,5
<b>2.8i</b>	81,5	22,5
<b>2.11c</b>	83,5	25,0
<b>2.11e</b>	62,4	23,7
<b>2.11h</b>	89,5	27,0
<b>2.11i</b>	84,9	27,7
<b>2.12b</b>	96,7	25,0
<b>2.12f</b>	84,4	21,7

De acordo com estes resultados, outros compostos foram sintetizados e testados novamente na linha celular MCF-7, utilizando as mesmas concentrações (10 e 30  $\mu\text{M}$ ) e condições descritas acima, sendo analisados uma série adicional de 16 compostos num segundo *screening* (Tabela 2.18).

**Tabela 2.18 - *Screening* 2:** viabilidade celular para a linha celular MCF-7 após 72 horas de tratamento (10 e 30  $\mu\text{M}$ ).

Composto	Viabilidade celular (%)	
	10 $\mu\text{M}$	30 $\mu\text{M}$
2.6c	90,0	58,0
2.8d	83,7	46,2
2.8f	98,3	83,1
2.8h	43,2	37,0
2.11b	36,5	36,5
2.11d	34,5	35,2
2.11f	36,3	37,4
2.11g	98,3	69,9
2.11j	71,9	37,2
2.12c	46,2	38,3
2.12d	49,9	37,4
2.12g	42,9	37,4
2.12h	37,3	34,9
2.12i	38,0	36,4
2.13a	39,2	37,3
2.13b	52,5	36,8

Por fim, num terceiro *screening*, todos os compostos foram testados usando a linha celular Hs578t e os compostos 2.8b, 2.8d, 2.8e, 2.11d, 2.11e, 2.11i e 2.11j foram selecionados para determinação do  $\text{IC}_{50}$  nessa linha celular (Tabela 2.19).

**Tabela 2.19 – *Screening* 3:** viabilidade celular para a linha celular Hs578t após 72 horas de tratamento (10 e 30  $\mu\text{M}$ )

Composto	Viabilidade celular (%)	
	10 $\mu\text{M}$	30 $\mu\text{M}$
2.6c	89,6	61,0
2.8a	74,3	71,0
2.8b	83,4	34,0
2.8c	83,1	76,9
2.8d	26,7	28,9
2.8e	86,0	32,4
2.8f	91,2	32,4
2.8g	85,6	66,5
2.8h	64,4	29,2
2.8i	90,0	89,8
2.11b	93,3	26,0
2.11c	91,5	33,7
2.11d	35,2	29,5
2.11e	62,5	38,8

Composto	Viabilidade celular (%)	
	10 $\mu\text{M}$	30 $\mu\text{M}$
2.11f	83,5	26,0
2.11g	105,0	83,1
2.11h	90,8	33,2
2.11i	88,8	31,5
2.11j	80,0	28,2
2.12b	97,9	28,4
2.12c	106,2	29,6
2.12d	108,8	30,5
2.12f	100,1	26,5
2.12g	99,1	27,8
2.12h	86,4	26,9
2.12i	99,9	27,3
2.13a	86,7	28,5
2.13b	93,5	34,2



### IC<sub>50</sub> dos compostos selecionados

O IC<sub>50</sub> para cada linha celular e composto foi determinado por ensaio SRB. As células foram tratadas com 7 concentrações diferentes de composto de 0,1 a 60 µM ou 0,001 a 40 µM, de acordo com a previsão do valor de IC<sub>50</sub> (Tabela 2.20).

Os compostos **2.8b**, **2.8e** e **2.11e** apresentaram menores valores de IC<sub>50</sub> para a linha de células MCF-7 do que para a linha de células Hs578t, sugerindo uma maior potência desses compostos para o subtipo luminal de cancro de mama.

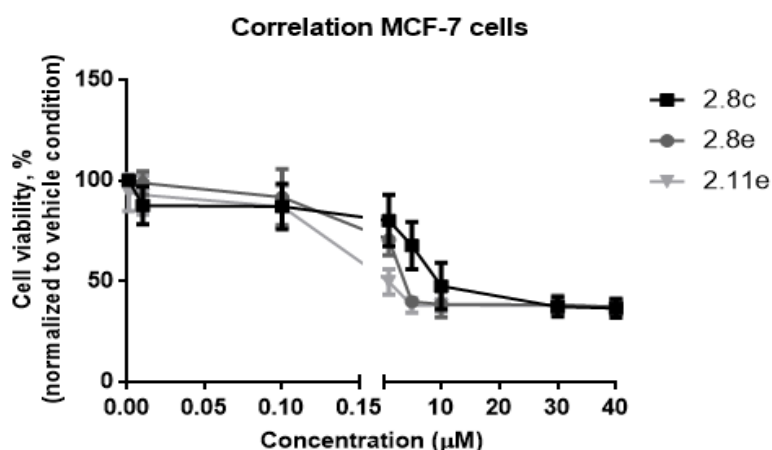
**Tabela 2.20** - Potência anti proliferativa para os compostos selecionados nas linhas celulares MCF-7 e Hs578t.

Composto	IC <sub>50</sub> (µM) <sup>a</sup> ± DP	
	MCF-7 (luminal)	Hs578t (basal-like)
<b>2.8b</b>	8,7 ± 0,05	48,4 ± 3,45
<b>2.8d</b>	—	19,3 ± 0,44
<b>2.8e</b>	5,5 ± 0,39	7,0 ± 2,30
<b>2.11d</b>	—	1,8 ± 0,19
<b>2.11e</b>	3,5 ± 0,44	11,9 ± 1,9
<b>2.11i</b>	—	18,8 ± 1,36
<b>2.11j</b>	—	14,0 ± 1,01

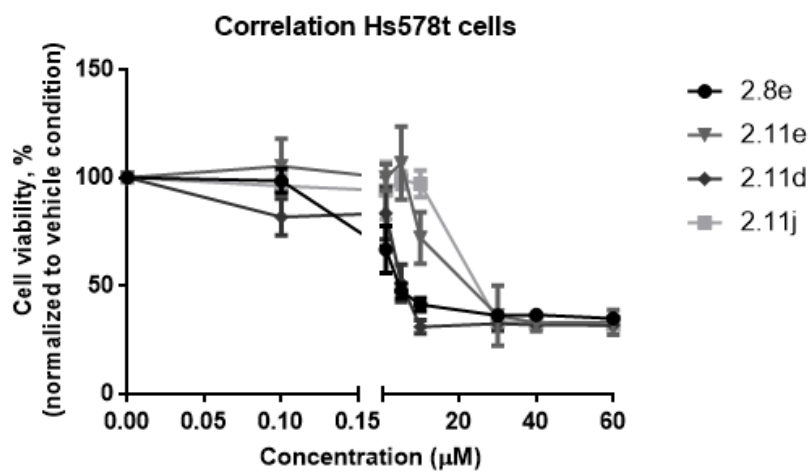
<sup>a</sup>Cada composto foi testado pelo menos em triplicado e os dados são apresentados como valores médios. DP – Desvio padrão.

Na sequência dos resultados obtidos foram traçadas as curvas de dose resposta para o efeito dos compostos, com melhores resultados, nas células MCF-7 e Hs578t para a biomassa celular total (Gráfico 2.1 e 2.2).

**Gráfico 2.1** - Efeito dos compostos **2.8c**, **2.8e** e **2.11e** na linha celular MCF-7 para a biomassa celular total (72 horas de tratamento). Os resultados são expressos em média ± DP.



**Gráfico 2.2** - Efeito dos compostos **2.8e**, **2.11d**, **2.11e**, e **2.11j** na linha celular Hs578t para a biomassa celular total (72 horas de tratamento). Os resultados são expressos em média  $\pm$  DP.

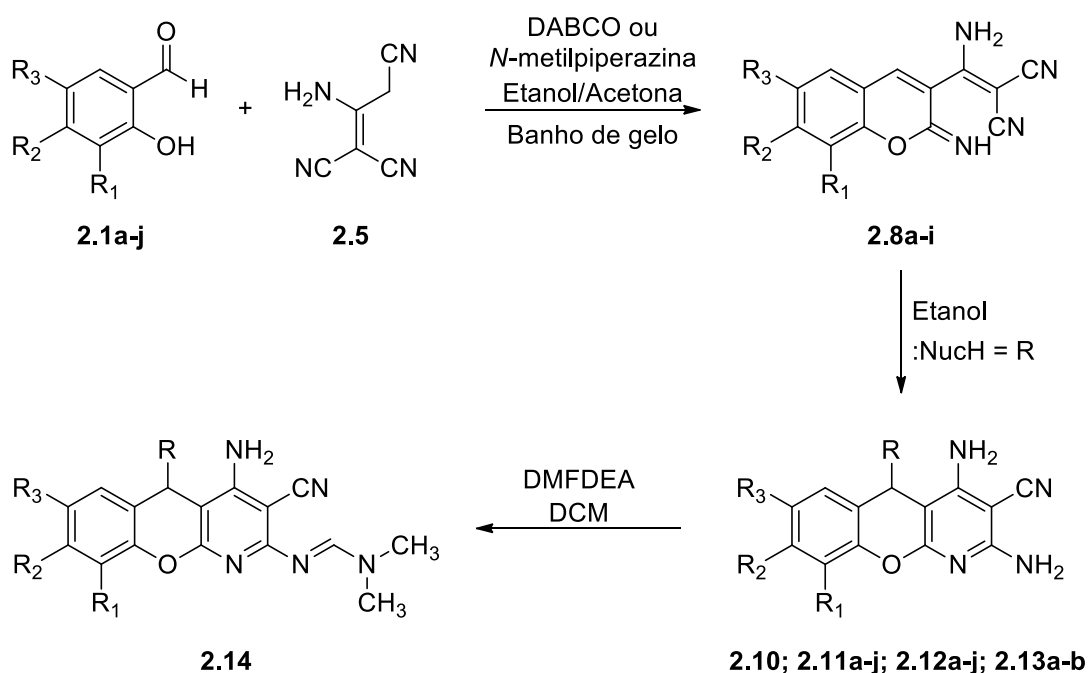


## 2.6 Conclusões e trabalho futuro

Os 2-imino-2*H*-cromenos **2.8a-i** foram sintetizados por reação de salicilaldeídos **2.1a-i** com o 2-amino-1,1,3-tricianopropeno **2.5** em etanol/acetona, na presença de DABCO ou *N*-metilpiperazina, em banho de gelo. Uma vez que precipitam diretamente da mistura reacional, são facilmente isolados por simples filtração, com bons rendimentos (63-84%).

Estes 2-imino-2*H*-cromenos **2.8a-i** foram usados como precursores de 2,4-diamino-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilos 5-substituídos, por reação com nucleófilos de nitrogénio (**2.11a-j** e **2.12a-j**) e por malononitrilo (**2.13a-b**), em etanol. Os 21 compostos novos preparados foram quase todos isolados com bons rendimentos.

O composto **2.11b** foi colocado a reagir com DMFDEA, conseguindo-se identificar a *N*-(4-amino-3-ciano-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridin-2-il)-*N,N*-dimetilformimidamida **2.14** numa mistura com **2.11b** de partida. A identificação de **2.14** deixa assim em aberto, para futuro, a otimização das condições reacionais para a sua síntese, assim como a possibilidade de gerar compostos tetracíclicos (Esquema 2.23).



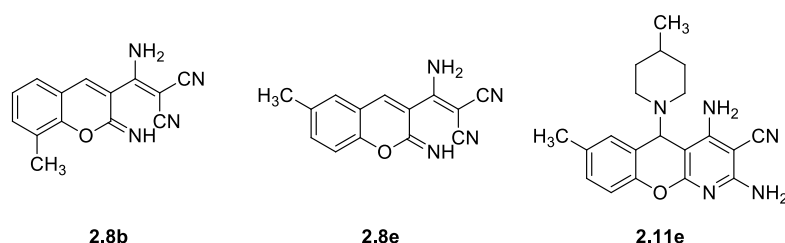
Os compostos sintetizados foram submetidos para ensaios biológicos na Escola de Medicina da Universidade do Minho, para determinar o seu potencial anticancerígeno nas linhas celulares MCF-7 e Hs578t do cancro da mama. Verificou-se que os compostos **2.8b**, **2.8e** e **2.11e** apresentavam uma

excelente atividade na linha celular MCF-7, com valores de  $IC_{50}$  de  $87 \pm 0,05$ ,  $5,5 \pm 0,39$  e  $3,5 \pm 0,44$   $\mu M$ , respectivamente (Figura 2.14). Os compostos **2.8b**, **2.8d**, **2.8e**, **2.11d**, **2.11e**, **2.11i** e **2.11j** mostraram muito boa atividade na linha celular Hs578t com valores de  $IC_{50}$  entre  $1,8 \pm 0,19$  e  $48,4 \pm 3,45$   $\mu M$  (Figura 2.15).

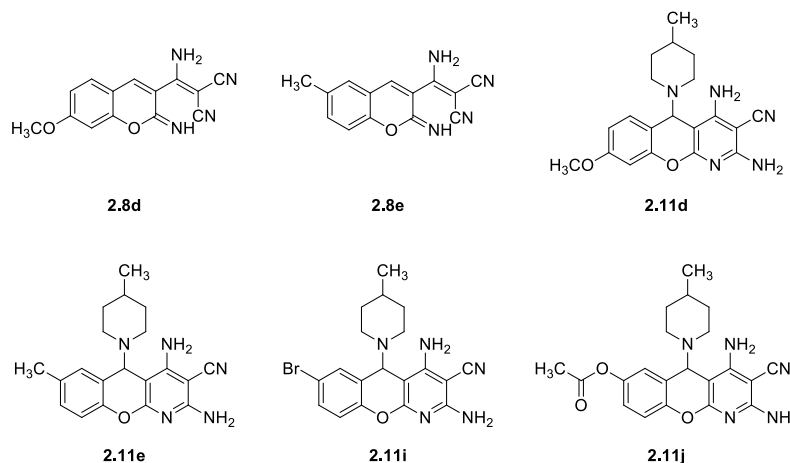
Estes resultados mostram que a presença do grupo metilo nas posições 6 ou 8 do composto **2.8** e nas posições 7 ou 9 do composto **2.11**, assim como, a presença do grupo metoxilo na posição 8 do composto **2.11** é importante, tendo-se obtido para estes compostos os resultados mais promissores nos testes biológicos.

No futuro outros compostos, para os quais não foi determinado o valor de  $IC_{50}$ , deveriam prosseguir para a determinação desse valor, usando a linha celular MCF-7, uma vez que a triagem inicial mostrou que algumas destas estruturas tricíclicas são candidatos muito promissores para o tratamento do cancro de mama. Adicionalmente, seria também interessante avaliar a bioactividade dos compostos **2.11c** e **2.11i** na linha celular Hs578t, determinando os seus valores de  $IC_{50}$ .

Finalmente, para as moléculas mais promissoras, seria importante avaliar a sua citotoxicidade para a linha celular MCF-10A, uma linhagem celular não neoplásica do modelo da mama. Posteriormente, o índice de seletividade (IS) deve ser calculado para inferir sobre a citotoxicidade da linha celular de cancro de mama não neoplásico nas concentrações testadas.



**Figura 2.14** – Estrutura dos compostos com melhores resultados biológicos na linha celular MCF-7.



**Figura 2.15** - Estrutura dos compostos com melhores resultados biológicos na linha celular Hs578t.

## Capítulo 3

---

### Procedimentos experimentais



### 3.1 Instrumentação e Reagentes

Os espectros de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram registrados num aparelho Bruker Avance III a 400 MHz e 100,6 MHz respectivamente, usando o pico do solvente como referência interna. A atribuição dos sinais de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foi efetuada recorrendo às técnicas de correlação heteronuclear bidimensionais HSQC e HMBC. Na espectroscopia de ressonância magnética nuclear foi usado como solvente DMSO- $d_6$  ou  $\text{CDCl}_3$ , com 99,8% de grau de deuteração, da marca Aldrich.

A cromatografia em camada fina (TLC) foi efetuada em placa de sílica gel 60 com indicador de fluorescência, de 0,20 mm de espessura, adquiridas à Macherey-Nagel e os processos de revelação foram: (i) deteção visual e (ii) ultravioleta ( $\lambda_{\text{max}}$ : 365 nm) numa câmara CN-6 Viber Lourmat de luz ultravioleta. O eluente geralmente utilizado foi uma mistura de acetato de etilo:éter de petróleo (4:1).

Os pontos de fusão foram determinados num aparelho digital Stuart SMP3.

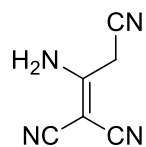
As evaporações realizaram-se sob pressão reduzida, num evaporador rotativo Buchi 011 Rotavapor.

Os espectros de IV foram obtidos num espectrofotómetro FT-IR/DiffusIR da marca Bomem MB-Series. As amostras foram preparadas por mistura com nujol, entre células de cloreto de sódio.

Os reagentes e solventes das marcas Acros Organics e Sigma-Aldrich foram utilizados tal como recebidos. Todos os solventes utilizados apresentavam um grau de pureza p.a. não sendo necessária purificação.

## 3.2 Síntese química

### Síntese de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno 2.5



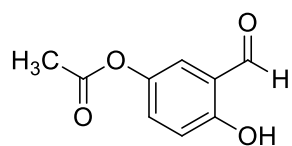
**Método A:** Uma suspensão de malononitrilo (1,091 g; 16,52 mmol) em solução aquosa de  $\text{NaHCO}_3$  0,02M (6 mL) foi ligeiramente aquecida com a pistola de calor e colocada em agitação à temperatura ambiente. Ao fim de 5 dias observou-se uma grande quantidade de sólido formado terminando-se a agitação. O sólido foi filtrado sob vácuo, lavado com água fria e identificado como 2-amino-1,1,3-tricianopropeno ligeiramente contaminado com um produto não identificado na proporção provável de 20:1 (0,710 g; 5,37 mmol; 65%), com base no seu espectro de RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ).

**Método B:** Uma suspensão de malononitrilo (1,102 g; 16,73 mmol) em solução aquosa de  $\text{NaHCO}_3$  0,02M (6 mL) foi colocada em agitação na incubadora à temperatura constante de  $18^\circ\text{C}$ . Ao fim de 6 dias observou-se uma quantidade razoável de sólido formado, terminando-se a agitação. O sólido foi filtrado sob vácuo, lavado com água fria e identificado como 2-amino-1,1,3-tricianopropeno ligeiramente contaminado com um produto não identificado na proporção provável de 25:1 (0,615 g; 4,65 mmol; 56%), com base no seu espectro de RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ).

Bandas representativas no espectro de IV (Nujol)  $\nu_{\text{max}}$ : 3342, 3232, 2265, 2220, 2203, 1652 e  $1552\text{ cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 3,82 (s; 2H;  $\text{CH}_2$ ); 8,96 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ); 9,00 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 22,18 ( $\text{C}_3$ ); 49,77 ( $\text{C}_1$ ); 114,26 ( $\text{CN}_{(1)}$ ); 114,65 ( $\text{CN}_{(3)}$ ); 115,38 ( $\text{CN}_{(1)}$ ); 164,79 ( $\text{C}_2$ ).

### Acetilação de salicilaldeídos fenólicos

#### Síntese de acetato de 3-formil-4-hidroxifenil 2.1j

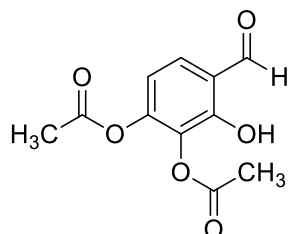


A uma solução de 2,5-dihidroxibenzaldeído (150 mg; 1,09 mmol) em acetonitrilo (1,3 mL) adicionou-se anidrido acético (113  $\mu\text{L}$ ; 1,20 mmol; 1.1 eq.) e de seguida adicionou-se trietilamina (152  $\mu\text{L}$ ; 1,09 mmol, 1 eq.), resultando numa solução escura que se colocou em agitação à temperatura ambiente. Ao fim de 4 dias, por TLC, deu-se a reação por terminada, removeu-se o acetonitrilo a pressão reduzida. Adicionou-se  $\text{H}_2\text{O}$  (0,5 mL) formando-se um precipitado acinzentado. O sólido foi filtrado, lavado com água fria e identificado como acetato de 3-formil-4-hidroxifenil (71 mg; 0,39 mmol; 36%), com base no seu espectro de RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ). P.f.:  $73-74^\circ\text{C}$ ; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 1756,  $1673\text{ cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,



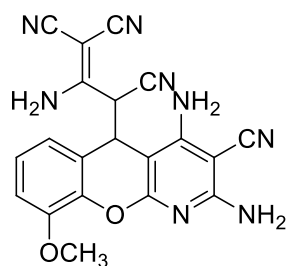
$\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>): 2,32 (s; 3H; CH<sub>3</sub>); 7,01 (d; 1H; J = 8,8Hz; H<sub>5</sub>); 7,26 (dd; 1H; J<sub>1</sub> = 2,8Hz; J<sub>2</sub> = 9,2Hz; H<sub>6</sub>); 7,33 (d; 1H; J = 2,8Hz; H<sub>2</sub>); 9,86 (s; 1H; COH); 10,91 (s; 1H; OH).  $^{13}C$  RMN,  $\delta_c$  (CDCl<sub>3</sub>): 20,96 (CH<sub>3</sub>); 118,70 (C<sub>5</sub>); 120,14 (C<sub>3</sub>); 125,33 (C<sub>2</sub>); 130,68 (C<sub>6</sub>); 142,98 (C<sub>1</sub>); 159,26 (C<sub>4</sub>); 169,51 (COO); 195,72 (COH).

#### Síntese de diacetato de 4-formil-3-hidroxi-1,2-fenileno 2.11



A uma solução de 2,3,4-trihidroxibenzaldeído (151 mg; 0,97 mmol) em acetonitrilo (1,3 mL) adicionou-se anidrido acético (193  $\mu$ L; 2,04 mmol; 2.1 eq.) e de seguida adicionou-se trietilamina (270  $\mu$ L; 1,94 mmol, 2 eq.), resultando numa solução esverdeada escura, que foi colocada em agitação à temperatura ambiente. Ao fim de 32 horas, por TLC, deu-se a reação por terminada, removeu-se o acetonitrilo a pressão reduzida. Adicionou-se H<sub>2</sub>O (0,5 mL) formando-se um precipitado escuro. O sólido foi filtrado e lavado com água fria e identificado como diacetato de 4-formil-3-hidroxi-1,2-fenileno (91 mg; 0,38 mmol; 39%), com base no seu espectro de RMN ( $^1H$  e  $^{13}C$ ). P.f.: 119-121°C; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{max}$ : 1773, 1657 cm<sup>-1</sup>;  $^1H$  RMN,  $\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>): 2,36 (6H, s, CH<sub>3</sub>); 6,90 (d; 1H; J = 8,8Hz; H<sub>5</sub> ou H<sub>6</sub>); 7,49 (d; 1H; J = 8,8Hz; H<sub>5</sub> ou H<sub>6</sub>); 9,88 (s; 1H; COH); 11,31 (s; 1H; OH).

#### Síntese de 2-amino-3-(2-amino-3-(1-amino-2,2-dicianovinil)-8-metoxi-4H-cromen-4-Il)prop-1-eno-1,1,3-tricarbonitrilo 2.7



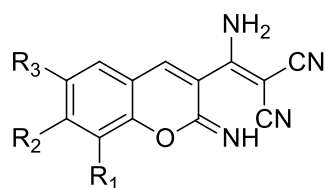
**Método A:** A uma suspensão de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (96 mg; 0,73 mmol; 1,1 eq.) em solução aquosa de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,05 M (3mL) foi adicionada  $\alpha$ -vanilina (100 mg; 0,66 mmol), resultando numa suspensão amarela, que foi colocada em agitação à temperatura ambiente. Após 5 dias a reação foi dada como terminada. O sólido amarelo foi filtrado e lavado com água e umas gotas de éter etílico frio, e identificado como o 2-amino-3-(2-amino-3-(1-amino-2,2-dicianovinil)-8-metoxi-4H-cromen-4-Il)prop-1-eno-1,1,3-tricarbonitrilo (36 mg; 0,09 mmol; 25%), com base no seu espectro de RMN ( $^1H$  e  $^{13}C$ ).

**Método B:** Uma suspensão de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (97 mg; 0,73 mmol; 1,1 eq.) em etanol (2 mL) e solução aquosa de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,1 M (2mL) foi colocado nos ultrassons, resultando numa solução amarelada. De seguida, foi adicionada  $\alpha$ -vanilina (101 mg; 0,66 mmol), tornando a solução avermelhada.

A mistura reacional foi novamente colocada nos ultrassons, precipitando um sólido amarelo. Após 15 minutos a reação foi dada como terminada. O sólido amarelo foi filtrado e lavado com água e umas gotas de éter etílico frio, e identificado como o 2-amino-3-(2-amino-3-(1-amino-2,2-dicianovinil)-8-metoxi-4*H*-cromen-4-Il)prop-1-eno-1,1,3-tricarbonitrilo (127 mg; 0,32 mmol; 88%), com base no seu espectro de RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ).

Bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3485, 3385, 3246, 3130, 2201, 1645, 1593 e 1561  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): **A** 3,81 (s; 1H; OCH<sub>3</sub>); 3,84 (d; J= 8,8Hz; H<sub>1'</sub>); 4,75 (d; J= 8,8 Hz; H<sub>4</sub>); 6,65 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 6,69 (dd; 1H; J<sub>1</sub>= 2,4Hz; J<sub>2</sub>= 6,4Hz; H<sub>5</sub>); 6,90 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 7,07-7,12 (m; 2H; H<sub>6</sub> e H<sub>7</sub>); 8,96 (s; 2H; NH<sub>2</sub>). **B** 3,82 (s; 1H; OCH<sub>3</sub>); 4,18 (d; J= 7,2Hz; H<sub>1'</sub>); 4,80 (d; J= 7,2 Hz; H<sub>4</sub>); 6,62 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 6,63 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 6,70 (dd; 1H; J<sub>1</sub>= 2,4Hz; J<sub>2</sub>= 6,4Hz; H<sub>5</sub>); 7,07-7,12 (m; 2H; H<sub>6</sub> e H<sub>7</sub>); 8,70 (s; 1H; NH<sub>2</sub>); 8,77 (s; 1H; NH<sub>2</sub>).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): **A** 36,51 (C<sub>5</sub>); 41,10 (C<sub>1'</sub>); 52,08 (C<sub>3'</sub>); 56,10 (OCH<sub>3</sub>); 70,80 (C<sub>3</sub>); 86,19 (C<sub>4a</sub>); 112,94 (C<sub>8</sub>); 113,86 (CN); 114,07 (CN); 115,30 (CN); 116,49 (CN); 119,15 (C<sub>6</sub>); 120,76 (C<sub>5a</sub>); 123,98 (C<sub>7</sub>); 141,59 (C<sub>9a</sub>); 147,86 (C<sub>9</sub>); 157,39 (C<sub>4</sub>); 160,33 (C<sub>2</sub>); 161,50 (C<sub>10a</sub>); 164,68 (C<sub>2'</sub>). **B** 36,69 (C<sub>5</sub>); 41,98 (C<sub>1'</sub>); 51,66 (C<sub>3'</sub>); 55,93 (OCH<sub>3</sub>); 70,64 (C<sub>3</sub>); 85,57 (C<sub>4a</sub>); 112,63 (C<sub>8</sub>); 114,60 (CN); 114,78 (CN); 115,30 (CN); 116,37 (CN); 120,20 (C<sub>6</sub>); 120,23 (C<sub>5a</sub>); 123,68 (C<sub>7</sub>); 141,41 (C<sub>9a</sub>); 147,65 (C<sub>9</sub>); 156,91 (C<sub>4</sub>); 160,22 (C<sub>2</sub>) 161,34 (C<sub>10a</sub>); 164,68 (C<sub>2'</sub>).

### Síntese de 2-iminocromenos por reação de salicilaldeídos com 2-amino-1,1,3 tricianopropeno

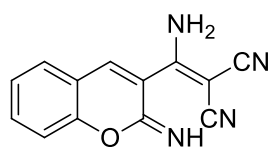


#### Procedimento geral

Uma solução de salicilaldeído e *N*-metilpiperazina (1,1 ou 2 eq.) ou DABCO (0,9 eq.) em etanol foi colocada em agitação em banho de gelo. Após  $\pm$  1 min adicionou-se uma suspensão de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (1 eq.)

em acetona. Após se observar alteração da cor da suspensão, a mistura reacional foi ligada ao sistema de vácuo para remover a acetona. A agitação foi terminada quando se formou uma suspensão espessa que foi filtrada sob vácuo e lavada com etanol e acetona fria. Os produtos foram identificados com base no seu espectro de IV e RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ).

## 2-(amino(2-imino-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo 2.8a



**Método A:** Salicilaldeído (105  $\mu$ L; 1 mmol); DABCO (101; 0,9 mmol; 2 eq.); etanol (0,6 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (132 mg; 1 mmol; 1 eq.); acetona (1,8 mL); 3 h 30 min.

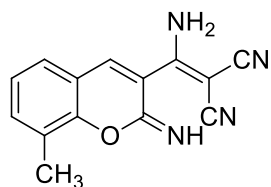
Sólido amarelo (141 mg), produto contaminado, por  $^1\text{H}$  RMN.

**Método B:** Salicilaldeído (80  $\mu$ L; 0,76 mmol); *N*-metilpiperazina (169  $\mu$ L; 1,52 mmol; 2 eq.); etanol (1,8 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (100 mg; 0,76 mmol; 1 eq.); acetona (1 mL); 30 min.

Sólido amarelo (114 mg; 0,48 mmol; 63%).

P.f.: decomposição lenta a partir dos 232°C; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3327, 3279, 3198, 2220, 2200, 1652, 1598, 1573 e 1535  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 7,17 (d; 1H;  $J=8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 7,22 (td; 1H;  $J_1=1,2\text{Hz}$ ;  $J_2=7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,51 (td; 1H;  $J_1=1,2\text{Hz}$ ;  $J_2=8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ); 7,56 (dd; 1H;  $J_1=1,2\text{Hz}$ ;  $J_2=7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_5$ ); 7,73 (s; 1H;  $\text{H}_4$ ); 8,63 (s; 1H; NH); 8,91 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ); 8,94 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 49,96 ( $\text{C}_{1'}$ ); 115,16 (CN); 115,18 ( $\text{C}_8$ ); 116,13 (CN); 117,76 ( $\text{C}_{4a}$ ); 124,02 ( $\text{C}_3$ ); 124,03 ( $\text{C}_6$ ); 128,94 ( $\text{C}_5$ ); 132,46 ( $\text{C}_7$ ); 136,81 ( $\text{C}_4$ ); 152,30 ( $\text{C}_2$ ); 153,45 ( $\text{C}_{8a}$ ); 168,28 ( $\text{C}_2'$ ).

## 2-(amino(2-imino-8-metil-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo 2.8b



**Método A:** 3-metilsalicilaldeído (92  $\mu$ L; 0,76 mmol); DABCO (77 mg; 0,69 mmol; 0,9 eq.); etanol (1,2 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (101 mg; 0,76 mmol; 1 eq.); acetona (1 mL); 53 min.

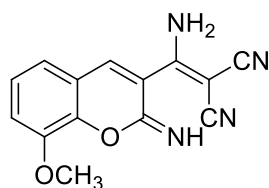
Sólido amarelo claro (63 mg), produto contaminado, por  $^1\text{H}$  RMN.

**Método B:** 3-metilsalicilaldeído (458  $\mu$ L; 3,78 mmol); *N*-metilpiperazina (461  $\mu$ L; 4,16 mmol; 1,1 eq.); etanol (4 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (500 mg; 3,78 mmol; 1 eq.); acetona (3 mL); 1h 10 min.

Sólido amarelo claro (761 mg; 3,04 mmol; 80%);

P.f.: decomposição lenta a partir dos 233°C com fusão a 254-256 °C; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3324, 3259, 2216, 2204, 1650, 1600 e 1537  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,30 (s; 3H;  $\text{CH}_3$ ); 7,11 (t; 1H;  $J_1=7,2\text{Hz}$ ;  $J_2=8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,38 (d; 2H;  $J=7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_5$  e  $\text{H}_7$ ); 7,70 (d; 1H;  $J=2,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_4$ ); 8,59 (d; 1H;  $J=1,6\text{Hz}$ ; NH); 8,90 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ); 8,93 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 14,64 ( $\text{CH}_3$ ); 49,62 ( $\text{C}_{1'}$ ); 115,13 (CN); 116,61 (CN); 117,50 ( $\text{C}_{4a}$ ); 123,48 ( $\text{C}_6$ ); 123,64 ( $\text{C}_3$ ); 124,14 ( $\text{C}_8$ ); 126,60 ( $\text{C}_5$ ); 133,58 ( $\text{C}_7$ ); 137,13 ( $\text{C}_4$ ); 151,56 ( $\text{C}_{8a}$ ); 152,54 ( $\text{C}_2$ ); 168,36 ( $\text{C}_2'$ ).

### 2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo 2.8c



**Método A:** *o*-vanilina (173 mg; 1,14 mmol); DABCO (115 mg; 1,03 mmol; 0,9 eq.); etanol (0,5 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (150 mg; 1,14 mmol; 1 eq.); acetona (1,4 mL); 39 min.

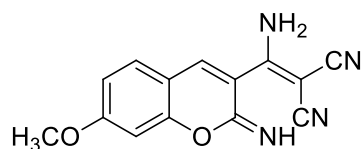
Sólido amarelo (220 mg; 0,83 mmol; 73%).

**Método B:** *o*-vanilina (530 mg; 3,48 mmol); N-metilpiperazina (772  $\mu$ L; 6,96 mmol; 2 eq.); Etanol (2 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (460 mg; 3,48 mmol; 1 eq.); Acetona (2,5 mL); 37 min.

Sólido amarelo (762 mg; 2,86 mmol; 82%);

P.f.: decomposição lenta a partir dos 217°C; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3329, 3282, 3202, 2220, 2199, 1663, 1651, 1606 e 1580  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 3,86 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 7,11 (dd; 1H;  $J_1 = 1,6\text{Hz}$ ;  $J_2 = 7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_5$ ); 7,16 (t; 1H;  $J = 7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,23 (dd; 1H;  $J_1 = 1,6\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ); 7,70 (s; 1H;  $\text{H}_4$ ); 8,70 (s; 1H; NH); 8,91 (s; 1H,  $\text{NH}_2$ ); 8,93 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 49,62 ( $\text{C}_1$ ); 56,01 ( $\text{OCH}_3$ ); 115,12 (CN); 115,17 ( $\text{C}_7$ ); 116,58 (CN); 118,37 ( $\text{C}_{4a}$ ); 120,19 ( $\text{C}_5$ ); 123,92 ( $\text{C}_6$ ); 124,91 ( $\text{C}_3$ ); 136,96 ( $\text{C}_4$ ); 142,63 ( $\text{C}_{8a}$ ); 146,01 ( $\text{C}_8$ ); 151,94 ( $\text{C}_2$ ); 168,34 ( $\text{C}_2'$ ).

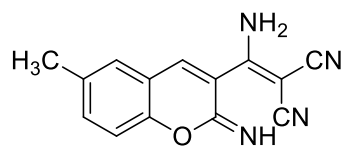
### 2-(amino(2-imino-7-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo 2.8d



4-metoxisalicilaldeído (116 mg; 0,76 mmol); N-metilpiperazina (169  $\mu$ L; 1,52 mmol; 2 eq.); etanol (1 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (101 mg; 0,76 mmol; 1 eq.); acetona (0,8 mL); 51 min.

Sólido amarelo (149 mg; 0,56 mmol; 74%); p.f.: decomposição lenta a partir dos 205°C; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3335, 3278, 3202, 3256, 3214, 2217, 2201, 1656, 1624, 1564 e 1530  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): **A**) 3,82 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 6,74 (s; 1H;  $\text{H}_8$ ); 6,82 (dd; 1H;  $J_1 = 2,4\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,4\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,49 (d; 1H;  $J = 8,4\text{Hz}$ ;  $\text{H}_5$ ); 7,66 (d; 1H;  $J = 1,2\text{Hz}$ ;  $\text{H}_4$ ); 8,46 (d; 1H;  $J = 1,2\text{Hz}$ ; NH); 8,86 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ). **B**) 3,79 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 6,50 (d; 1H;  $J = 2,4\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 6,63 (dd; 1H;  $J_1 = 2,4\text{Hz}$ ;  $J_2 = 9,2\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 8,00 (s; 1H;  $\text{H}_4$ ); 8,10 (d; 1H;  $J = 9,2\text{Hz}$ ;  $\text{H}_5$ ); 8,87 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 11,00 (s; 1H; NH).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): **A**) 55,34 ( $\text{OCH}_3$ ); 121,11 ( $\text{C}_3$ ); 129,91 ( $\text{C}_5$ ); 135,63 ( $\text{C}_4$ ); 151,72 ( $\text{C}_2$ ); 168,42 ( $\text{C}_2'$ ); Não foi possível identificar no espectro os sinais correspondentes aos carbonos  $\text{C}_{4a}$ ,  $\text{C}_6$ ,  $\text{C}_7$ ,  $\text{C}_8$ ,  $\text{C}_{8a}$  e  $\text{C}_1$ . **B**) Não foi possível identificar no espectro os sinais deste conjunto.

## 2-(amino(2-imino-6-metil-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo 2.8e



**Método A:** 5-metilsalicilaldeído (104 mg; 0,76 mmol); DABCO (78 mg; 0,68 mmol; 0,9 eq.); etanol (0,8 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (100 mg; 0,76 mmol; 1 eq.); acetona (2 mL); 50 min.

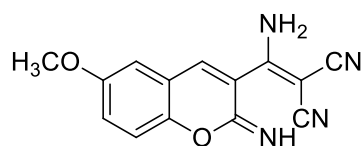
Sólido amarelo (183 mg), produto contaminado com DABCO, por  $^1\text{H}$  RMN.

**Método B:** 5-metilsalicilaldeído (104 mg; 0,76 mmol); *N*-metilpiperazina (168  $\mu\text{L}$ ; 1,52 mmol; 2 eq.); etanol (1 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (100 mg; 0,76 mmol; 1 eq.); acetona (0,8 mL); 37 min.

Sólido amarelo (153 mg; 0,61 mmol; 80%);

P.f.: decomposição lenta a partir dos  $230^\circ\text{C}$  com fusão parcial a  $159^\circ\text{C}$ ; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3325, 3274, 3197, 2220, 2202, 1661, 1648, 1622, 1595 e  $1578\text{ cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,29 (s; 3H;  $\text{CH}_3$ ); 7,07 (d; 1H;  $J = 8,4\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 7,32 (d; 1H;  $J = 8,8\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ); 7,35 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 7,67 (d; 1H;  $J = 1,2\text{Hz}$ ;  $\text{H}_4$ ); 8,54 (d; 1H;  $J = 1,6\text{Hz}$ ; NH); 8,90 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ); 8,92 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 20,06 ( $\text{CH}_3$ ); 49,62 ( $\text{C}_1$ ); 114,93 ( $\text{C}_8$ ); 117,47 ( $\text{C}_{4a}$ ); 123,93 ( $\text{C}_3$ ); 128,72 ( $\text{C}_5$ ); 133,04 ( $\text{C}_7$ ); 133,17 ( $\text{C}_6$ ); 136,80 ( $\text{C}_4$ ); 151,54 ( $\text{C}_{8a}$ ); 152,56 ( $\text{C}_2$ ); 168,36 ( $\text{C}_2$ ). Não foi possível identificar os sinais correspondentes ao carbono dos dois grupos ciano.

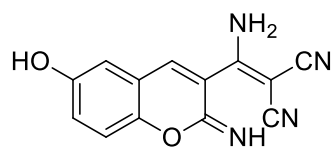
## 2-(amino(2-imino-6-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo 2.8f



5-metoxisalicilaldeído (95  $\mu\text{L}$ ; 0,76 mmol); *N*-metilpiperazina (169  $\mu\text{L}$ ; 1,52 mmol; 2 eq.); etanol (1,6 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (100 mg; 0,76 mmol; 1 eq.); acetona (1 mL); 46 min.

Sólido amarelo intenso (166 mg; 0,62 mmol; 82%); p.f.: decomposição lenta a  $206^\circ\text{C}$  com fusão a  $263^\circ\text{C}$ ; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3384, 3330, 3262, 3199, 2208, 2194, 1651, 1621, 1599 e  $1574\text{ cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 3,76 (s; 1H;  $\text{OCH}_3$ ); 7,06-7,15 (m; 3H;  $\text{H}_{5,7,8}$ ); 7,65 (s; 1H;  $\text{H}_4$ ); 8,49 (s; 1H; NH); 8,92 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ); 8,94 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 50,05 ( $\text{C}_1$ ); 55,75 ( $\text{OCH}_3$ ); 111,96 ( $\text{C}_5$ ); 116,24 ( $\text{C}_7$  ou  $\text{C}_8$ ); 118,21 ( $\text{C}_{4a}$ ); 119,07 ( $\text{C}_7$  ou  $\text{C}_8$ ); 124,49 ( $\text{C}_3$ ); 136,70 ( $\text{C}_4$ ); 147,73 ( $\text{C}_{8a}$ ); 152,77 ( $\text{C}_2$ ); 155,24 ( $\text{C}_6$ ); 168,42 ( $\text{C}_2$ ). Não foi possível identificar os sinais correspondentes ao carbono dos dois grupos ciano.

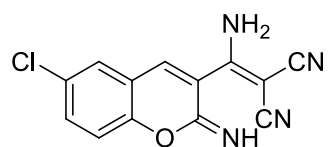
### 2-(amino(6-hidroxi-2-imino-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo 2.8g



2,5-dihidroxibenzaldeído (105 mg; 0,76 mmol); *N*-metilpiperazina (169  $\mu$ L; 1,52 mmol; 2 eq.); etanol (1,2 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (100 mg; 0,76 mmol; 1 eq.); acetona (1 mL); 1h 09 min.

Sólido amarelo (141 mg; 0,56 mmol; 74%); p.f.: decomposição lenta a 211°C; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3403, 3320, 3115, 2217, 2204, 1649, 1599, 1581 e 1574  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 6,88-6,91 (m; 2H;  $\text{H}_5$  e  $\text{H}_7$ ); 7,01 (d; 1H;  $\text{H}_8$ ); 7,65 (s; 1H;  $\text{H}_4$ ); 8,39 (s; 1H; NH); 8,88 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ); 8,91 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ); 9,63 (s; 1H; OH).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 49,90 ( $\text{C}_{1'}$ ); 113,55 ( $\text{C}_5$ ); 115,99 ( $\text{C}_8$ ); 118,25 ( $\text{C}_{4a}$ ); 119,63 ( $\text{C}_7$ ); 124,13 ( $\text{C}_3$ ); 136,89 ( $\text{C}_4$ ); 147,00 ( $\text{C}_{8a}$ ); 153,29 ( $\text{C}_2$ ); 153,25 ( $\text{C}_6$ ); 168,25 ( $\text{C}_2$ ). Não foi possível identificar os sinais correspondentes ao carbono dos dois grupos ciano.

### 2-(amino(6-cloro-2-imino-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo 2.8h



**Método A:** 6-clorosalicilaldeído (100 mg; 0,64 mmol); DABCO (65 mg; 0,68 mmol; 0,9 eq.); etanol (0,8 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (83 mg; 0,64 mmol; 1 eq.); acetona (1,6 mL); 38 min.

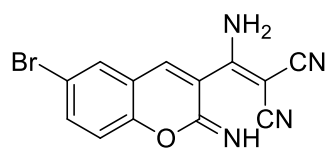
Sólido amarelo (161 mg), produto contaminado, por  $^1\text{H}$  RMN.

**Método B:** 6-clorosalicilaldeído (119 mg; 0,76 mmol); *N*-metilpiperazina (169  $\mu$ L; 1,52 mmol; 2 eq.); etanol (1,5 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (99 mg; 0,76 mmol; 1 eq.); acetona (1 mL); 53 min.

Sólido amarelo (174 mg; 0,64 mmol; 84%);

P.f.: >300°C com decomposição lenta a partir dos 244°C; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3326, 3279, 3190, 2221 e 2204  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 7,21 (d; 1H;  $\text{H}_8$ ); 7,55 (dd; 1H;  $\text{H}_7$ ); 7,69 (d; 1H;  $\text{H}_5$ ); 7,69 (s; 1H;  $\text{H}_4$ ); 8,82 (d; 1H; NH); 8,93 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ); 8,99 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 50,05 ( $\text{C}_{1'}$ ); 117,16 ( $\text{C}_8$ ); 119,31 ( $\text{C}_{4a}$ ); 125,28 ( $\text{C}_3$ ); 127,95 ( $\text{C}_5$ ); 132,05 ( $\text{C}_7$ ); 135,51 ( $\text{C}_4$ ); 151,64 ( $\text{C}_2$ ); 152,09 ( $\text{C}_{8a}$ ); 167,87 ( $\text{C}_2$ ). Não foi possível identificar os sinais correspondentes ao carbono dos dois grupos ciano nem o sinal do carbono  $\text{C}_6$ .

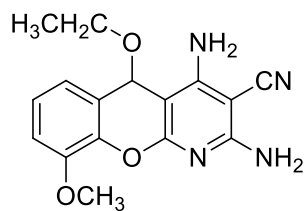
## 2-(amino(6-cloro-2-imino-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo 2.8i



6-bromosalicilaldeído (152 mg; 0,76 mmol); DABCO (76 mg; 0,68 mmol; 0,9 eq.); etanol (0,4 mL); 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (101 mg; 0,76 mmol; 1 eq.); acetona (1 mL); 38 min.

Sólido amarelo (170 mg; 0,54 mmol; 71%); p.f.: >300°C com decomposição lenta a partir dos 242°C; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3339, 3278, 3207, 2220 e 2204  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 7,15 (d; 1H;  $J = 8,8\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 7,66 (dd; 1H;  $J_1 = 2,4\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,8\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ); 7,69 (d; 1H;  $J = 1,2\text{Hz}$ ;  $\text{H}_4$ ); 7,81 (d; 1H;  $J = 1,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_5$ ); 8,83 (d; 1H;  $J = 1,6\text{Hz}$ ; NH); 8,93 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ); 8,99 (s; 1H;  $\text{NH}_2$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 49,72 ( $\text{C}_1$ ); 114,91 (CN); 115,31 ou 119,79 ( $\text{C}_{4a}$ ); 116,37 (CN); 117,47 ( $\text{C}_8$ ); 115,31 ou 119,79 ( $\text{C}_6$ ); 125,21 ( $\text{C}_3$ ); 130,86 ( $\text{C}_5$ ); 134,74 ( $\text{C}_7$ ); 135,42 ( $\text{C}_4$ ); 151,58 ( $\text{C}_2$ ); 152,51 ( $\text{C}_{8a}$ ); 167,84 ( $\text{C}_2$ ).

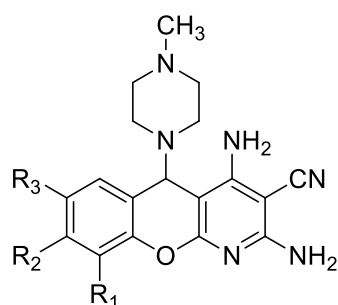
## Síntese de 2,4-diamino-5-etoxi-9-metoxi-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.10



Uma suspensão de 2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (40 mg; 0,15 mmol) em etanol (7 mL) foi colocada em agitação à temperatura ambiente. Após 7 horas, quando se observou uma quantidade significativa de sólido com uma cor mais clara que o 2-

iminocromeno de partida, terminou-se a reação. O sólido bege foi filtrado sob vácuo, lavado com etanol e identificado como o 2,4-diamino-5-etoxi-9-metoxi-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo (31 mg; 0,10 mmol; 67%).  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 0,91 (t;  $J = 6,8\text{Hz}$ ; 3H;  $\text{CH}_3$ ); 3,02 (m; 2H;  $\text{CH}_2$ ); 3,83 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 5,81 (1H; s;  $\text{H}_5$ ); 6,57 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,67 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,97 (dd;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 7,6\text{Hz}$ ; 1H;  $\text{H}_6$ ); 7,05 (dd;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,0\text{Hz}$ ; 1H;  $\text{H}_8$ ); 7,13 (t;  $J = 7,6\text{Hz}$ ; 1H;  $\text{H}_7$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 15,28 ( $\text{CH}_3$ ); 55,84 ( $\text{OCH}_3$ ); 58,21 ( $\text{CH}_2$ ); 65,69 ( $\text{C}_5$ ); 70,35 ( $\text{C}_3$ ); 86,98 ( $\text{C}_{4a}$ ); 111,96 ( $\text{C}_8$ ); 116,33 (CN); 120,46 ( $\text{C}_6$ ); 120,51 ( $\text{C}_{5a}$ ); 123,49 ( $\text{C}_7$ ); 140,66 ( $\text{C}_{9a}$ ); 147,25 ( $\text{C}_9$ ); 158,38 ( $\text{C}_4$  ou  $\text{C}_{10a}$ ); 159,79 ( $\text{C}_4$  ou  $\text{C}_{10a}$ ); 160,22 ( $\text{C}_2$ ).

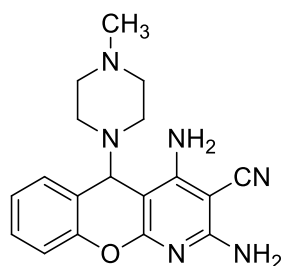
### Síntese de 2,4-diamino-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilos



#### Procedimento geral

Adicionou-se *N*-metilpiperazina (2 ou 5 eq.) a uma suspensão de 2-iminocromeno em etanol e colocou-se em agitação à temperatura ambiente. Terminou-se a reação quando se observou a formação de uma quantidade significativa de sólido com uma cor mais clara que o 2-iminocromeno de partida. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol. Os produtos foram identificados com base no seu espectro de IV e RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ).

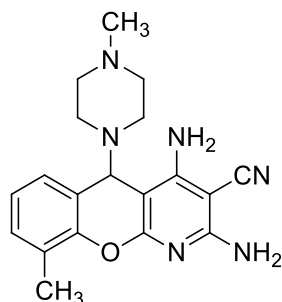
#### 2,4-diamino-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.11a



2-(amino(2-imino-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,21 mmol); etanol (8 mL); *N*-metilpiperazina (117  $\mu\text{L}$ ; 1,05 mmol; 5 eq.); 18 h 28 min. A mistura reacional foi concentrada no evaporador rotativo e o sólido gerado foi tratado de acordo com o procedimento geral.

Sólido amarelo claro (18 mg; 0,05 mmol; 24%); p.f.: não foi feito por já não existir amostra; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3453, 3370, 3310, 3179, 2209, 1645, 1539 e 1561  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,03 (s; 3H;  $\text{H}_5$ ); 2,13-2,24 (m; 8H;  $\text{H}_2$  e  $\text{H}_3$ ); 4,94 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,47 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,52 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 7,11 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_9$ ); 7,16 (td; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ); 7,23 (dd; 1H;  $J_1 = 1,6\text{Hz}$ ;  $J_2 = 7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,34 (td; 1H;  $J_1 = 1,6\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 45,62 ( $\text{H}_5$ ); 54,41 ( $\text{C}_5$ ); 54,93 ( $\text{C}_2$  e  $\text{C}_3$ ); 70,82 ( $\text{C}_3$ ); 87,87 ( $\text{C}_{4a}$ ); 116,00 ( $\text{C}_9$ ); 116,49 (CN); 117,44 ( $\text{C}_{5a}$ ); 122,91 ( $\text{C}_7$ ); 128,70 ( $\text{C}_8$ ); 129,61 ( $\text{C}_6$ ); 151,92 ( $\text{C}_{9a}$ ); 158,12 ( $\text{C}_{10a}$ ); 159,84 ( $\text{C}_2$ ); 160,53 ( $\text{C}_4$ ).

#### 2,4-diamino-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.11b



**Método A:** 2-(amino(2-imino-8-metil-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (200 mg; 0,8 mmol); etanol (10 mL); *N*-metilpiperazina (444  $\mu\text{L}$ ; 4 mmol; 5 eq.); 16 h 23 min.

Sólido amarelo claro (168 mg; 0,48 mmol; 60%);

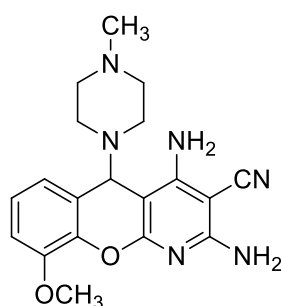
**Método B:** 2-(amino(2-imino-8-metil-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (201 mg; 0,8 mmol); etanol (5 mL); *N*-metilpiperazina (177  $\mu\text{L}$ ; 1,6 mmol; 2 eq.); 19 h 41 min.



Sólido amarelo claro (217 mg; 0,62 mmol; 78%);

P.f.: 204-205°C com decomposição; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\max}$ : 3329, 3281, 3088, 2196, 1632, 1586 e 1568  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,01 (s; 3H;  $\text{H}_5$ ); 2,10-2,28 (m; 8H;  $\text{H}_2$  e  $\text{H}_3$ ); 2,26 (s; 3H;  $\text{CH}_3$ ); 4,91 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,50 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,52 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 7,03-7,04 (m; 2H;  $\text{H}_6$  e  $\text{H}_7$ ); 7,19 (m; 1H;  $\text{H}_8$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 15,62 ( $\text{CH}_3$ ); 45,69 ( $\text{H}_5$ ); 54,67 ( $\text{C}_5$ ); 54,99 ( $\text{C}_2$  e  $\text{C}_3$ ); 70,86 ( $\text{C}_3$ ); 87,99 ( $\text{C}_{4a}$ ); 116,57 (CN); 117,09 ( $\text{C}_{5a}$ ); 122,37 ( $\text{C}_7$ ); 124,72 ( $\text{C}_9$ ); 127,29 ( $\text{C}_6$ ); 129,90 ( $\text{C}_8$ ); 150,16 ( $\text{C}_{9a}$ ); 158,17 ( $\text{C}_{10a}$ ); 159,94 ( $\text{C}_2$ ); 160,65 ( $\text{C}_4$ ).

### 2,4-diamino-9-metoxi-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.11c



**Método A:** 2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (150 mg; 0,56 mmol); etanol (18 mL); *N*-metilpiperazina (311  $\mu\text{L}$ ; 2,8 mmol; 5 eq.); 22 h 31 min.

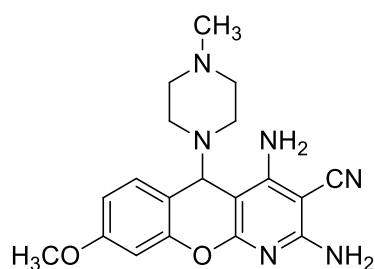
Sólido bege (160 mg; 0,44 mmol; 79%).

**Método B:** 2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,19 mmol); etanol (7 mL); *N*-metilpiperazina (42  $\mu\text{L}$ ; 0,38 mmol; 2 eq.); 22 h 09 min.

Sólido bege (51 mg; 0,14 mmol; 74%).

P.f.: 223-225°C com decomposição; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\max}$ : 3480, 3412, 3316, 3167, 2206, 1619, 1588 e 1562  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,02 (s; 3H;  $\text{H}_5$ ); 2,12-2,24 (m; 8H;  $\text{H}_2$  e  $\text{H}_3$ ); 3,81 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 4,92 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,45 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,50 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,77 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 7,6\text{Hz}$ ,  $\text{H}_6$ ); 7,01 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,0\text{Hz}$ ,  $\text{H}_8$ ); 7,08 (t; 1H;  $J = 8,0\text{Hz}$ ,  $\text{H}_7$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 45,68 ( $\text{C}_5$ ); 54,56 ( $\text{C}_5$ ); 55,00 ( $\text{C}_2$  e  $\text{C}_3$ ); 55,78 ( $\text{OCH}_3$ ); 70,87 ( $\text{C}_3$ ); 87,87 ( $\text{C}_{4a}$ ); 111,37 ( $\text{C}_8$ ); 116,58 (CN); 118,26 ( $\text{C}_{5a}$ ); 120,93 ( $\text{C}_6$ ); 122,63 ( $\text{C}_7$ ); 141,26 ( $\text{C}_{9a}$ ); 147,32 ( $\text{C}_9$ ); 158,14 ( $\text{C}_{10a}$ ); 159,83 ( $\text{C}_2$ ); 160,56 ( $\text{C}_4$ ).

### 2,4-diamino-8-metoxi-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.11d

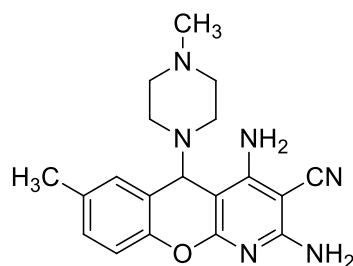


2-(amino(2-imino-7-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,19 mmol); etanol (6 mL); *N*-metilpiperazina (105  $\mu\text{L}$ ; 0,95 mmol; 5 eq.); 17 h 17 min.

Sólido bege (53 mg; 0,14 mmol; 74%); p.f.: >300°C com decomposição lenta a partir dos 216°C; bandas representativas no

espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3452, 3344, 3295, 3181, 2199, 1625, 1601 e 1561  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,03 (s; 3H;  $\text{H}_5$ ); 2,13-2,23 (m; 8H;  $\text{H}_2$  e  $\text{H}_3$ ); 3,76 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 4,86 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,45 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,51 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,67 (d; 1H;  $J = 2,8\text{Hz}$ ;  $\text{H}_9$ ); 6,74 (dd; 1H;  $J_1 = 2,4\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,4\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ); 7,14 (d; 1H;  $J = 8,8\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 45,67 ( $\text{C}_5$ ); 54,14 ( $\text{C}_5$ ); 54,98 ( $\text{C}_2$  e  $\text{C}_3$ ); 55,38 ( $\text{OCH}_3$ ); 70,90 ( $\text{C}_3$ ); 88,15 ( $\text{C}_{4a}$ ); 100,96 ( $\text{C}_9$ ); 109,59 ( $\text{C}_7$ ); 109,74 ( $\text{C}_{5a}$ ); 116,52 (CN); 130,35 ( $\text{C}_6$ ); 152,83 ( $\text{C}_{9a}$ ); 158,17 ( $\text{C}_{10a}$ ); 159,50 ( $\text{C}_8$ ); 159,79 ( $\text{C}_2$ ); 160,50 ( $\text{C}_4$ ).

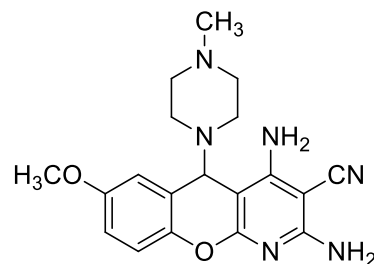
#### 2,4-diamino-7-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.11e



2-(amino(2-imino-6-metil-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,20 mmol); etanol (7 mL); *N*-metilpiperazina (111  $\mu\text{L}$ ; 1 mmol; 5 eq.); 28 h 39 min.

Sólido bege (47 mg; 0,13 mmol; 65%); p.f.:  $>300^\circ\text{C}$  com decomposição lenta a partir dos  $216^\circ\text{C}$ ; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3424, 3314, 3188, 2204, 1648, 1613, 1590 e 1565  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,03 (s; 3H;  $\text{H}_5$ ); 2,12-2,25 (m; 8H;  $\text{H}_2$  e  $\text{H}_3$ ); 2,31 (s; 3H;  $\text{CH}_3$ ); 4,87 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,44 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,50 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,99 (d; 1H;  $J = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_9$ ); 7,01 (d; 1H;  $J = 2,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,13 (dd; 1H;  $J_1 = 2,0\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,4\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 20,42 ( $\text{CH}_3$ ); 45,63 ( $\text{H}_5$ ); 54,52 ( $\text{C}_5$ ); 54,95 ( $\text{C}_2$  e  $\text{C}_3$ ); 70,76 ( $\text{C}_3$ ); 87,90 ( $\text{C}_{4a}$ ); 115,78 ( $\text{C}_9$ ); 116,55 (CN); 117,10 ( $\text{C}_{5a}$ ); 129,26 ( $\text{C}_8$ ); 129,65 ( $\text{C}_6$ ); 131,87 ( $\text{C}_7$ ); 149,88 ( $\text{C}_{9a}$ ); 158,15 ( $\text{C}_{10a}$ ); 159,82 ( $\text{C}_2$ ); 160,65 ( $\text{C}_4$ ).

#### 2,4-diamino-7-metoxi-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.11f

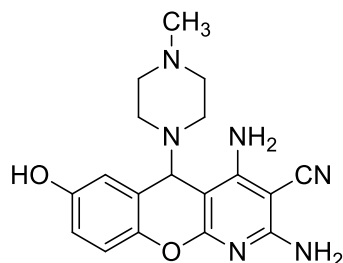


2-(amino(2-imino-6-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,19 mmol); etanol (5 mL); *N*-metilpiperazina (42  $\mu\text{L}$ ; 0,38 mmol; 2 eq.); 19 h 40 min.

Sólido bege (49 mg; 0,13 mmol; 68%); p.f.:  $>226-228^\circ\text{C}$  com decomposição; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3433, 3343, 3173, 2204, 1648, 1619, 1568  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,02 (s; 3H;  $\text{H}_5$ ); 2,10-2,25 (m; 8H;  $\text{H}_2$  e  $\text{H}_3$ ); 3,74 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 4,88 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,41 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,45 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,72 (d; 1H;  $J = 3,2\text{Hz}$ ;  $\text{H}_9$ ); 6,92 (dd; 1H;  $J_1 = 3,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 9,2\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 7,05 (d; 1H;  $J = 8,8\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 45,71 ( $\text{C}_5$ ); 54,96 ( $\text{C}_5$ ); 55,05 ( $\text{C}_2$  e  $\text{C}_3$ ); 55,59 ( $\text{OCH}_3$ ); 70,85 ( $\text{C}_3$ ); 87,67 ( $\text{C}_{4a}$ ); 113,88 ( $\text{C}_6$ ); 114,59

(C<sub>8</sub>); 116,64 (CN); 116,96 (C<sub>9</sub>); 118,22 (C<sub>5a</sub>); 145,98 (C<sub>9a</sub>); 154,75 (C<sub>7</sub>); 158,25 (C<sub>10a</sub>); 159,88 (C<sub>22</sub>); 160,80 (C<sub>4</sub>).

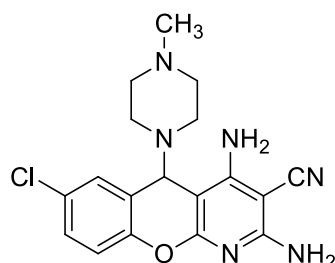
#### 2,4-diamino-7-hidroxi-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.11g



2-(amino(6-hidroxi-2-imino-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,20 mmol); etanol (6 mL); *N*-metilpiperazina (111 µL; 1 mmol; 5 eq.); 26 h 04 min.

Sólido amarelo (46 mg; 0,13 mmol; 68%); p.f.: >300°C com decomposição lenta a partir dos 206°C; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\max}$ : 3456, 3327, 3199, 2198, 1622, 1610 e 1582 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H RMN,  $\delta_{\text{H}}$ (DMSO-d<sub>6</sub>): 2,04 (s; 3H; H<sub>5</sub>); 2,13-2,26; (m; 8H; H<sub>2'</sub> e H<sub>3</sub>); 4,84 (s; 1H; H<sub>5</sub>); 6,40 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 6,45 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 6,61 (d; 1H; J = 2,8Hz, H<sub>6</sub>); 6,72 (dd; 1H; J<sub>1</sub> = 2,8Hz; J<sub>2</sub> = 8,8Hz; H<sub>8</sub>); 6,92 (d; 1H; J = 8,8Hz, H<sub>9</sub>); 9,28 (s; 1H; OH). <sup>13</sup>C RMN,  $\delta_{\text{C}}$ (DMSO-d<sub>6</sub>): 45,65 (C<sub>5</sub>); 54,73 (C<sub>5</sub>); 54,99 (C<sub>2'</sub> e C<sub>3'</sub>); 70,59 (C<sub>3</sub>); 87,57 (C<sub>4a</sub>); 114,98 (C<sub>6</sub>); 115,59 (C<sub>8</sub>); 116,62 (CN); 116,67 (C<sub>9</sub>); 118,05 (C<sub>5a</sub>); 144,74 (C<sub>9a</sub>); 152,64 (C<sub>7</sub>); 158,12 (C<sub>10a</sub>); 159,75 (C<sub>2</sub>); 160,83 (C<sub>4</sub>).

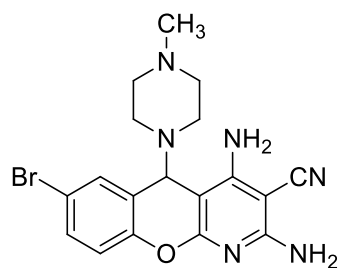
#### 2,4-diamino-7-cloro-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.11h



2-(amino(6-cloro-2-imino-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,19 mmol); etanol (7 mL); *N*-metilpiperazina (105 µL; 0,95 mmol; 5 eq.); 22 h 56 min.

Sólido bege (50 mg; 0,14 mmol; 74%); p.f.: >300°C com decomposição lenta a partir dos 241°C; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\max}$ : 3426, 3315, 3187, 2205, 1646, 1616 e 1563 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H RMN,  $\delta_{\text{H}}$ (DMSO-d<sub>6</sub>): 2,03 (s; 3H; H<sub>5</sub>); 2,12-2,22; (m; 8H; H<sub>2'</sub> e H<sub>3</sub>); 4,94 (s; 1H; H<sub>5</sub>); 6,52 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 6,54 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 7,17 (d; 1H; J = 8,4Hz; H<sub>9</sub>); 7,25 (d; 1H; J = 2,4Hz; H<sub>6</sub>); 7,40 (dd; 1H; J<sub>1</sub> = 2,8Hz; J<sub>2</sub> = 8,8Hz; H<sub>8</sub>). <sup>13</sup>C RMN,  $\delta_{\text{C}}$ (DMSO-d<sub>6</sub>): 45,60 (C<sub>5</sub>); 54,25 (C<sub>5</sub>); 54,86 (C<sub>2'</sub> e C<sub>3'</sub>); 71,01 (C<sub>3</sub>); 87,26 (C<sub>4a</sub>); 116,39 (CN); 118,02 (C<sub>9</sub>); 119,25 (C<sub>5a</sub>); 126,64 (C<sub>7</sub>); 128,67 (C<sub>8</sub>); 128,72 (C<sub>6</sub>); 150,75 (C<sub>9a</sub>); 158,14 (C<sub>10a</sub>); 159,93 (C<sub>4</sub>); 160,25 (C<sub>2</sub>).

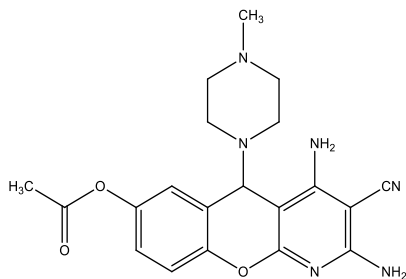
2,4-diamino-7-bromo-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.11i



2-(amino(6-bromo-2-imino-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,16 mmol); etanol (7 mL); *N*-metilpiperazina (89  $\mu$ L; 0,8 mmol; 5 eq.); 23 h 51 min.

Sólido bege (55 mg; 0,13 mmol; 81%); p.f.: >300°C com decomposição lenta a partir dos 244°C; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3427, 3313, 3191, 2204, 1643, 1616 e 1561  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,03 (s; 3H;  $\text{H}_5$ ); 2,21 (m; 8H;  $\text{H}_2'$  e  $\text{H}_3$ ); 4,94 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,53 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,54 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 7,11 (d; 1H;  $J = 8,8\text{Hz}$ ;  $\text{H}_9$ ); 7,37 (d; 1H;  $J = 2,4\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,52 (dd; 1H;  $J_1 = 2,4\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,8\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 45,58 ( $\text{C}_5$ ); 54,15 ( $\text{C}_5$ ); 54,84 ( $\text{C}_2'$  e  $\text{C}_3'$ ); 70,99 ( $\text{C}_3$ ); 87,28 ( $\text{C}_{4a}$ ); 114,48 ( $\text{C}_7$ ); 116,37 (CN); 118,41 ( $\text{C}_9$ ); 119,69 ( $\text{C}_{5a}$ ); 131,50 ( $\text{C}_8$ ); 131,59 ( $\text{C}_6$ ); 151,18 ( $\text{C}_{9a}$ ); 158,12 ( $\text{C}_4$ ); 159,92 ( $\text{C}_{10a}$ ); 160,18 ( $\text{C}_2$ ).

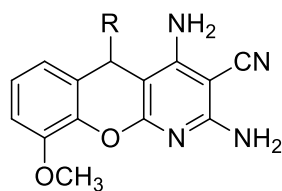
Acetato de 2,4-diamino-3-ciano-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridin-7-ilo 2.11j



Uma suspensão de acetato de 3-formil-4-hidroxifenilo (66 mg; 0,37 mmol) e *N*-metilpiperazina (82  $\mu$ L; 0,74 mmol; 2 eq.) em etanol (1,4 mL) foi colocada sob agitação em banho de gelo. Após  $\pm 1$  min foi adicionada uma suspensão de 2-amino-1,1,3-tricianopropeno (49 mg; 0,37 mmol; 1 eq.) em acetona (0,7 mL). Após a alteração

da cor da suspensão, a mistura reacional foi ligada ao sistema de vácuo para remoção da acetona. Ao fim de 1 hora e 40 minutos o sólido bege foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol e acetona fria. O sólido foi identificado como sendo acetato de 2,4-diamino-3-ciano-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridin-7-ilo (55 mg; 0,14 mmol; 38%), com base no seu espectro de IV e RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ). P.f.: 193-194°C com decomposição; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3439, 3311, 3195, 2202, 1763, 1637, 1611 e 1567  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,04 (s; 3H;  $\text{H}_5$ ); 2,15-24 (m; 8H;  $\text{H}_2'$  e  $\text{H}_3$ ); 2,26 (s; 3H;  $\text{COOCH}_3$ ); 4,93 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,48 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,54 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,98 (d; 1H;  $J = 2,4\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,10 (dd; 1H;  $J_1 = 2,8\text{Hz}$ ;  $J = 8,8\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 7,15 (d; 1H;  $J = 8,8\text{Hz}$ ;  $\text{H}_9$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 20,85 ( $\text{CH}_3$ ); 45,38 ( $\text{C}_5$ ); 54,49 ( $\text{C}_5$ ); 54,89 ( $\text{C}_2'$  e  $\text{C}_3'$ ); 70,91 ( $\text{C}_3$ ); 87,29 ( $\text{C}_{4a}$ ); 116,47 (CN); 116,82 ( $\text{C}_9$ ); 118,13 ( $\text{C}_{5a}$ ); 122,18 ( $\text{C}_8$ ); 122,33 ( $\text{C}_6$ ); 145,39 ( $\text{C}_7$ ); 149,38 ( $\text{C}_{9a}$ ); 158,15 ( $\text{C}_{10a}$ ); 159,91 ( $\text{C}_2$ ); 160,49 ( $\text{C}_4$ ); 169,33 (COO).

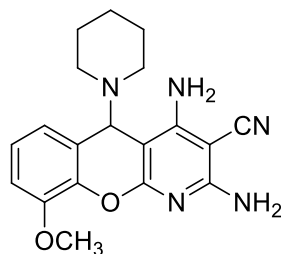
### Síntese de 2,4-diamino-9-metoxi-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilos 5-substituídos com outras aminas secundárias



#### Procedimento geral

Adicionou-se a amina secundária (5 eq.) a uma suspensão de 2-iminocromeno em etanol e colocou-se em agitação à temperatura ambiente. Terminou-se a reação quando se observou a presença de uma quantidade significativa de sólido com uma cor mais clara que o 2-iminocromeno de partida. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol. Os produtos foram identificados com base no seu espectro de IV e RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ).

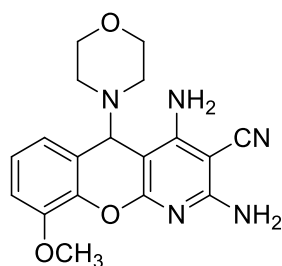
#### 2,4-diamino-9-metoxi-5-(piperidin-1-il)-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo 2.12a



2-(amino(2-imino-8-metoxi-2*H*-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,19 mmol); piperidina (94  $\mu\text{L}$ ; 0,95 mmol; 5 eq.); etanol (6 mL); 26 h 45 min.

Sólido bege (46 mg);  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 1,18-1,60 (m; 6H;  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_3$  ou/e  $\text{H}_4$ ); 2,22 (s; 3H;  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_3$  ou/e  $\text{H}_4$ ); 2,94-2,97 (m; 3H;  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_3$  ou/e  $\text{H}_4$ ); 3,81 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 4,87 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,44 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,47 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,79 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,00 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 7,07 (t; 1H;  $J = 7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ).

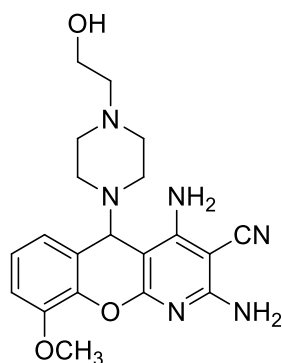
#### 2,4-Diamino-9-metoxi-5-morfolina-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo 2.12b



2-(amino(2-imino-8-metoxi-2*H*-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,19 mmol); morfolina (82  $\mu\text{L}$ ; 0,95 mmol; 5 eq.); etanol (6 mL); 21 h 12 min.

Sólido bege (44 mg; 0,12 mmol; 63%); bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3479, 3419, 3315, 3172, 2206, 1621, 1589 e  $1562\text{ cm}^{-1}$ ; p.f.:  $231^\circ\text{C}$  com decomposição a partir  $223^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,22 (s; 4H;  $\text{H}_2$ ); 3,42 (m; 4H;  $\text{H}_3$ ); 3,82 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 4,92 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,45 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,56 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,78 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,03 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,4\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 7,10 (t; 1H;  $J = 7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 47,63 ( $\text{C}_2$ ); 54,79 ( $\text{C}_5$ ); 55,75 ( $\text{OCH}_3$ ); 66,43 ( $\text{C}_3$ ); 70,81 ( $\text{C}_3$ ); 87,48 ( $\text{C}_{4a}$ ); 111,44 ( $\text{C}_8$ ); 116,56 (CN); 118,04 ( $\text{C}_{5a}$ ); 120,89 ( $\text{C}_6$ ); 122,72 ( $\text{C}_7$ ); 141,30 ( $\text{C}_{9a}$ ); 147,30 ( $\text{C}_9$ ); 158,05 ( $\text{C}_4$ ); 159,87 ( $\text{C}_2$ ); 160,68 ( $\text{C}_{10a}$ ).

2,4-diamino-5-(4-(2-hidroxietil)piperazin-1-il)-9-metoxi-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.12c

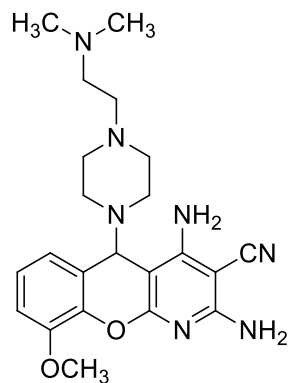


2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,19 mmol); 1-(2-hidroxietil)piperazina (117  $\mu$ L; 0,95 mmol; 5 eq.); etanol (6 mL); 26 h 38 min.

Sólido amarelo (44 mg; 0,11 mmol; 58%); p.f.: 204-205°C com decomposição; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3477, 3423, 3323, 3185, 2206, 1621, 1590 e 1562  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ):

2,20-2,31 (m; 10H;  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_3$  e  $\text{H}_6$ ); 3,34 (m; 2H;  $\text{H}_5$ ); 3,81 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 4,26 (t; 1H;  $J = 5,2\text{Hz}$ ; OH); 4,91 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,44 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,50 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,77 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,01 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 7,08 (t; 1H;  $J = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 53,44 ( $\text{C}_2$  e  $\text{C}_3$ ); 54,57 ( $\text{C}_5$ ); 55,79 ( $\text{OCH}_3$ ); 58,39 ( $\text{C}_5$ ); 60,14 ( $\text{C}_6$ ); 70,86 ( $\text{C}_3$ ); 87,86 ( $\text{C}_{4a}$ ); 111,36 ( $\text{C}_8$ ); 116,57 (CN); 118,21 ( $\text{C}_{5a}$ ); 120,97 ( $\text{C}_6$ ); 122,63 ( $\text{C}_7$ ); 141,27 ( $\text{C}_{9a}$ ); 147,32 ( $\text{C}_9$ ); 158,12 ( $\text{C}_{10a}$ ); 159,81 ( $\text{C}_2$ ); 160,55 ( $\text{C}_4$ ).

2,4-diamino-5-(4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)-9-metoxi-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.12d

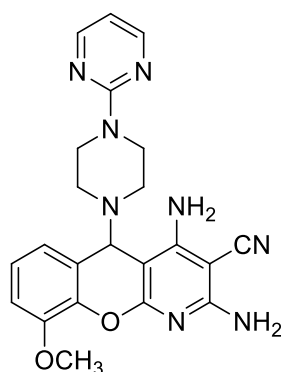


2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (51 mg; 0,19 mmol); 1-[2-(dimetilamino)etil]piperazina (149  $\mu$ L; 0,95 mmol; 5 eq.); etanol (6 mL); 23 h 22 min.

Sólido amarelo (33 mg; 0,08 mmol; 42%); p.f.: 204-205°C com decomposição; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3477, 3427, 3327, 3164, 2206, 1621, 1590 e 1563  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ):

2,10-2,30 (m; 12H;  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_3$ ,  $\text{H}_5$  e  $\text{H}_6$ ); 2,04 (s; 6H;  $\text{H}_8$ ); 3,81 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 4,91 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,45 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,50 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,77 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,01 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 7,08 (t; 1H;  $J = 8,0\text{ Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 45,41 ( $\text{C}_8$ ); 53,32 ( $\text{C}_2$  e  $\text{C}_3$ ); 54,52 ( $\text{C}_5$ ); 55,71 ( $\text{C}_5$ ); 55,76 ( $\text{OCH}_3$ ); 56,44 ( $\text{C}_6$ ); 70,83 ( $\text{C}_3$ ); 87,83 ( $\text{C}_{4a}$ ); 111,34 ( $\text{C}_8$ ); 116,55 (CN); 118,18 ( $\text{C}_{5a}$ ); 120,93 ( $\text{C}_6$ ); 122,60 ( $\text{C}_7$ ); 141,26 ( $\text{C}_{9a}$ ); 147,30 ( $\text{C}_9$ ); 158,09 ( $\text{C}_{10a}$ ); 159,79 ( $\text{C}_2$ ); 160,54 ( $\text{C}_4$ ).

## 2,4-diamino-9-metoxi-5-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.12e

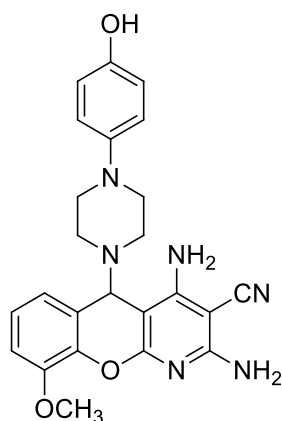


2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,19 mmol); 1-(2-pirimidina)piperazina (135  $\mu$ L; 0,95 mmol; 5 eq.); etanol (6 mL); 23 h 10 min.

Sólido amarelo (68 mg; 0,16 mmol; 84%); p.f.: 219-221°C com decomposição; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3486, 3388, 3285, 3175, 2205, 1621, 1582 e 1562  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ):

2,27 (s; 4H;  $\text{H}_2$ ); 3,59 (s; 4H;  $\text{H}_3$ ); 3,80 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 5,01 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,48 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,52 (t; 1H;  $J = 4,8\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 6,60 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,77 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 6,99 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 7,05 (t; 1H;  $J = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ); 8,25 (d; 2H;  $J = 4,8\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 43,54 ( $\text{C}_3$ ); 47,14 ( $\text{C}_2$ ); 54,82 ( $\text{C}_5$ ); 55,74 ( $\text{OCH}_3$ ); 70,89 ( $\text{C}_3$ ); 87,72 ( $\text{C}_{4a}$ ); 109,87 ( $\text{C}_8$ ); 111,43 ( $\text{C}_8$ ); 116,57 (CN); 117,91 ( $\text{C}_{5a}$ ); 120,85 ( $\text{C}_6$ ); 122,72 ( $\text{C}_7$ ); 141,26 ( $\text{C}_{9a}$ ); 147,34 ( $\text{C}_9$ ); 157,83 ( $\text{C}_7$ ); 158,09 ( $\text{C}_{10a}$ ); 159,89 ( $\text{C}_2$ ); 160,64 ( $\text{C}_4$ ); 160,89 ( $\text{C}_5$ ).

## 2,4-diamino-5-(4-(4-(hidroxifenil)piperazin-1-il)-9-metoxi-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.12f

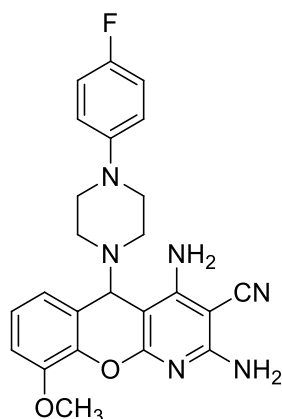


2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,19 mmol); 4-(1-piperazino)fenol (169 mg; 0,95 mmol; 5 eq.); etanol (6 mL); 22 h 22 min.

Sólido bege (173 mg). O produto apresentou-se contaminado com a amina de partida (1:5, por  $^1\text{H}$  RMN).

Sinais de  $^1\text{H}$  RMN identificados para o núcleo heteroaromático,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 3,82 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 5,00 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ).

## 2,4-diamino-5-(4-(4-(fluorofenil)piperazin-1-il)-9-metoxi-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.12g

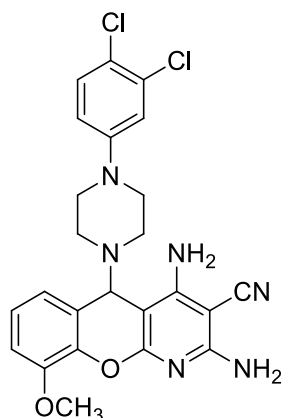


2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,19 mmol); 1-(4-fluorofenil)piperazina (150  $\mu$ L; 0,95 mmol; 5 eq.); etanol (7 mL); 26 h 50 min.

Sólido bege (71 mg; 0,16 mmol; 84%); p.f.: 220-222°C com decomposição; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3488, 3424, 3325, 3172, 2205, 1620, 1587 e 1561  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,37 (s; 4H;  $\text{H}_2$ ); 2,92 (s; 4H;  $\text{H}_3$ ); 3,82 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 5,01 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,47 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ );

6,57 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 6,80-6,83 (m; 3H; H<sub>6</sub> e H<sub>6'</sub>); 6,94-6,98 (m; 2H; H<sub>7</sub>); 7,03 (dd; 1H; J<sub>1</sub>= 1,2Hz; J<sub>2</sub>= 8,0Hz; H<sub>8</sub>); 7,10 (t; 1H; J= 8,0Hz; H<sub>7</sub>). <sup>13</sup>C RMN, δ<sub>c</sub> (DMSO-d<sub>6</sub>): 47,07 (C<sub>2'</sub>); 49,47 (C<sub>3'</sub>); 54,54 (C<sub>5</sub>); 55,76 (OCH<sub>3</sub>); 70,86 (C<sub>3</sub>); 87,72 (C<sub>4a</sub>); 111,41 (C<sub>8</sub>); 114,15 (d; J= 22Hz; C<sub>7</sub>); 116,57 (CN); 117,25 (d; J= 8Hz; C<sub>6'</sub>); 118,05 (C<sub>5a</sub>); 120,91 (C<sub>6</sub>); 122,71 (C<sub>7</sub>); 141,29 (C<sub>9a</sub>); 147,36 (C<sub>9</sub>); 147,96 (d; J= 1Hz; C<sub>5</sub>); 155,96 (d; J= 232Hz; C<sub>8</sub>); 158,11 (C<sub>10a</sub>); 159,88 (C<sub>2</sub>); 160,64 (C<sub>4</sub>).

#### 2,4-diamino-5-(4-(3,4-diclorofenil)piperazin-1-il)-9-metoxi-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.12h

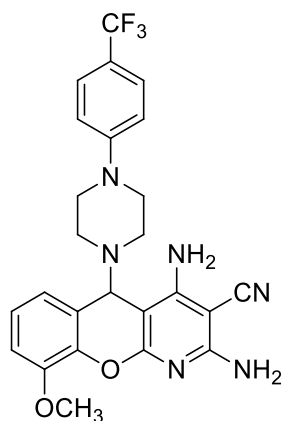


2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,19 mmol); 1-(3,4-diclorofenil)piperazina (150 µL; 0,95 mmol; 5 eq.); etanol (7 mL); 39 h 17 min.

Sólido bege (69 mg; 0,14 mmol; 74%); p.f.: 212-214°C com decomposição a 109-111°C; bandas representativas no espectro de IV (Nujol), ν<sub>max</sub>: 3477, 3331, 3165, 2207, 1622, 1590 e 1563 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H RMN, δ<sub>H</sub> (DMSO-d<sub>6</sub>): 2,31-2,38 (m; 4H; H<sub>2</sub>); 3,02-3,04 (m; 4H; H<sub>3</sub>); 3,81 (s; 3H; OCH<sub>3</sub>); 5,01 (s; 1H; H<sub>5</sub>); 6,48 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 6,58 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 6,77-6,80 (m; 2H; H<sub>6</sub> e H<sub>10'</sub>); 6,98 (d; 1H;

J= 2,8Hz; H<sub>6</sub>); 7,02 (dd; 1H; J<sub>1</sub>= 1,2Hz; J<sub>2</sub>= 8,0Hz; H<sub>8</sub>); 7,09 (t; 1H; J= 7,6Hz; H<sub>7</sub>); 7,30 (d; 1H; J= 9,2Hz; H<sub>9</sub>). <sup>13</sup>C RMN, δ<sub>c</sub> (DMSO-d<sub>6</sub>): 46,84 (C<sub>2'</sub>); 47,93 (C<sub>3'</sub>); 54,55 (C<sub>5</sub>); 55,76 (OCH<sub>3</sub>); 70,86 (C<sub>3</sub>); 87,66 (C<sub>4a</sub>); 111,45 (C<sub>8</sub>); 115,29 (C<sub>10'</sub>); 116,17 (C<sub>6'</sub>); 116,58 (CN); 117,95 (C<sub>5a</sub>); 119,39 (C<sub>7'</sub> ou C<sub>8'</sub>); 120,88 (C<sub>6</sub>); 122,76 (C<sub>7</sub>); 130,36 (C<sub>9</sub>); 131,37 (C<sub>7'</sub> ou C<sub>8'</sub>); 141,28 (C<sub>9a</sub>); 147,37 (C<sub>9</sub>); 150,67 (C<sub>5</sub>); 158,10 (C<sub>10a</sub>); 159,91 (C<sub>2</sub>); 160,66 (C<sub>4</sub>).

#### 2,4-diamino-9-metoxi-5-(4-(4-(trifluorometil)fenil)piperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.12i



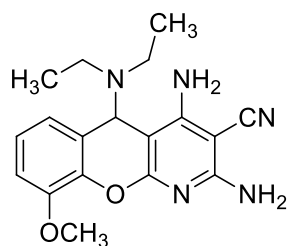
2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (49 mg; 0,19 mmol); 1-(4-trifluorometilfenil)piperazina (219 mg; 0,95 mmol; 5 eq.); etanol (6 mL); 23 h 01 min.

Sólido amarelo (72 mg; 0,15 mmol; 79%); p.f.: 210-212°C com decomposição; bandas representativas no espectro de IV (Nujol), ν<sub>max</sub>: 3478, 3429, 3325, 3165, 2208, 1621, 1589 e 1562 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H RMN, δ<sub>H</sub> (DMSO-d<sub>6</sub>): 2,31-2,37 (m; 4H; H<sub>2</sub>); 3,13 (s; 4H; H<sub>3</sub>); 3,81 (s; 3H; OCH<sub>3</sub>); 5,02 (s; 1H; H<sub>5</sub>); 6,47 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 6,58 (s; 2H; NH<sub>2</sub>); 6,80 (dd; 1H; J<sub>1</sub>= 1,2Hz; J<sub>2</sub>= 7,6Hz; H<sub>6</sub>);



6,92 (d; 2H;  $J = 8,4\text{Hz}$ ;  $H_6$ ); 7,02 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,4\text{Hz}$ ;  $H_8$ ); 7,09 (t; 1H;  $J = 7,6\text{Hz}$ ;  $H_7$ ); 7,41 (d; 2H;  $J = 8,8\text{Hz}$ ;  $H_7$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_c$  (DMSO- $d_6$ ): 46,97 ( $C_2$ ); 47,41 ( $C_3$ ); 54,68 ( $C_5$ ); 55,81 ( $\text{OCH}_3$ ); 70,94 ( $C_3$ ); 87,76 ( $C_{4a}$ ); 111,52 ( $C_8$ ); 114,17 ( $C_6$ ); 116,62 (CN); 117,70 (q;  $J = 32\text{Hz}$ ;  $C_8$ ); 117,97 ( $C_{5a}$ ); 120,95 ( $C_6$ ); 121,50 (q;  $J = 268\text{Hz}$ ;  $\text{CF}_3$ ); 122,85 ( $C_7$ ); 126,15 (q;  $J = 4\text{Hz}$ ;  $C_7$ ); 141,32 ( $C_{9a}$ ); 147,43 ( $C_9$ ); 153,20 ( $C_5$ ); 158,17 ( $C_{10a}$ ); 159,96 ( $C_2$ ); 160,72 ( $C_4$ ).

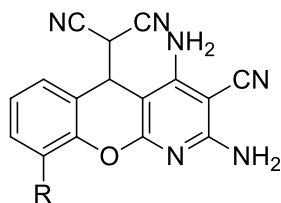
### 2,4-diamino-5-(dietilamino)-9-metoxi-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo 2.12j



2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (50 mg; 0,19 mmol); dietilamina (99  $\mu\text{L}$ ; 0,95 mmol; 5 eq.); etanol (6 mL); 28 h 30 min.

Sólido amarelo (22 mg; 0,06 mmol; 32%);  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_H$  (DMSO- $d_6$ ): 0,87 (t; 6H;  $J = 7,2\text{Hz}$ ;  $H_3$ ); 3,13 (s; 4H;  $H_3$ ); 2,44 (m; 4H;  $H_2$ ); 3,81 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 5,03 (s; 1H;  $H_5$ ); 6,41 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,47 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,84 (dd; 1H;  $J_1 = 1,6\text{Hz}$ ;  $J_2 = 7,6\text{Hz}$ ;  $H_6$ ); 7,00 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,0\text{Hz}$ ;  $H_8$ ); 7,06 (t; 1H;  $J = 8,0\text{Hz}$ ;  $H_7$ ).

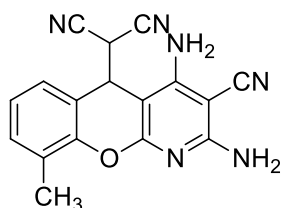
### Síntese de 2,4-diamino-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilos 5-substituídos com malononitrilo



#### Procedimento geral

Malononitrilo (1 eq.) e DABCO (0,9 eq.) foram adicionados a uma suspensão de 2-iminocromeno em etanol, que foi colocada em agitação à temperatura ambiente. Terminou-se a reação quando se observou uma quantidade significativa de sólido com uma cor mais clara que o 2-iminocromeno de partida. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol. Os produtos foram identificados com base no seu espectro de IV e RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ).

### 2-(2,4-diamino-3-ciano-9-metil-5H-cromeno[2,3-b]piridin-5-il)malononitrilo 2.13a

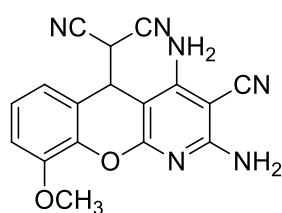


2-(amino(2-imino-8-metil-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (149 mg; 0,6 mmol); malononitrilo (41 mg; 0,6 mmol; 1 eq.); DABCO (62 mg; 0,54 mmol; 0,9 eq.); etanol (4 mL); 19 h 38 min.

Sólido amarelo (137 mg; 0,43 mmol; 72%); p.f.:  $>300^\circ\text{C}$  com decomposição lenta a partir dos  $230^\circ\text{C}$ ; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3495, 3459, 3373,

3284, 3250, 3167, 2200, 1641, 1594 e 1567  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,28 (s; 3H;  $\text{CH}_3$ ); 4,82 (d;  $J = 4,4\text{Hz}$ ; 1H;  $\text{H}_{1'}$ ); 4,90 (d;  $J = 4,4\text{Hz}$ ; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,71 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 7,04 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 7,13 (t;  $J = 7,6\text{Hz}$ ;  $\text{H}_7$ ); 7,22 (dd;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 6,8\text{Hz}$ ; 1H;  $\text{H}_6$ ); 7,30 (dd;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 6,8\text{Hz}$ ; 1H;  $\text{H}_8$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 15,45 ( $\text{CH}_3$ ); 30,40 ( $\text{C}_{1'}$ ); 34,81 ( $\text{C}_5$ ); 70,52 ( $\text{C}_3$ ); 83,88 ( $\text{C}_{4a}$ ); 112,90 (CN); 113,41 (CN); 116,27 (CN); 117,59 ( $\text{C}_{5a}$ ); 123,52 ( $\text{C}_7$ ); 125,60 ( $\text{C}_9$ ); 126,54 ( $\text{C}_6$ ); 131,22 ( $\text{C}_8$ ); 149,79 ( $\text{C}_{9a}$ ); 156,95 ( $\text{C}_{10a}$ ); 160,45 ( $\text{C}_4$ ); 160,48 ( $\text{C}_2$ ).

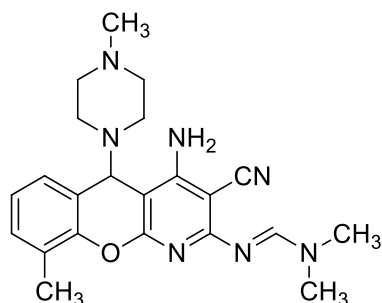
### 2-(2,4-diamino-3-ciano-9-metoxi-5H-cromeno[2,3-b]piridin-5-il)malononitrilo 2.13b



2-(amino(2-imino-8-metoxi-2H-cromeno-3-il)metileno)malononitrilo (51 mg; 0,19 mmol); malononitrilo (13 mg; 0,19 mmol; 1 eq.); DABCO (20 mg; 0,17 mmol; 0,9 eq.); etanol (6 mL); 19 h 23 min.

Sólido amarelo (49 mg; 0,15 mmol; 79%); p.f.:  $>300^\circ\text{C}$  com decomposição lenta a partir dos  $230^\circ\text{C}$ ; bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3459, 3367, 3335; 3244, 2198, 1644, 1599 e 1561  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 3,84 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 4,82 (d;  $J = 4,4\text{Hz}$ ; 1H;  $\text{H}_{1'}$ ); 4,91 (d;  $J = 4,0\text{Hz}$ ; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,65 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 6,95 (dd;  $J_1 = 1,6\text{Hz}$ ;  $J_2 = 7,6\text{Hz}$ ; 1H;  $\text{H}_6$ ); 7,04 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 7,12 (dd;  $J_1 = 1,6\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,4\text{Hz}$ ;  $\text{H}_8$ ); 7,18 (t;  $J = 7,6\text{Hz}$ ; 1H;  $\text{H}_7$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 30,28 ( $\text{C}_{1'}$ ); 34,74 ( $\text{C}_5$ ); 55,87 ( $\text{OCH}_3$ ); 70,51 ( $\text{C}_3$ ); 83,70 ( $\text{C}_{4a}$ ); 112,71 ( $\text{C}_8$ ); 112,89 (CN); 113,40 (CN); 116,27 (CN); 118,67 ( $\text{C}_{5a}$ ); 119,98 ( $\text{C}_6$ ); 123,92 ( $\text{C}_7$ ); 140,98 ( $\text{C}_{9a}$ ); 147,64 ( $\text{C}_9$ ); 156,92 ( $\text{C}_{10a}$ ); 160,36 ( $\text{C}_4$ ); 160,36 ( $\text{C}_2$ ).

### Tentativa de síntese N-(4-amino-3-ciano-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridin-2-il)-N,N-dimetilformimidamida 2.14



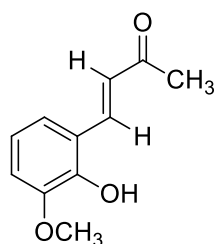
A uma suspensão de 2,4-diamino-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo (100 mg; 0,29 mmol) em DCM (1 mL) foi adicionado DMFDEA (29  $\mu\text{L}$ ; 0,17 mmol; 0,6 eq.), resultando numa suspensão acinzentada, que foi colocada em agitação à temperatura ambiente. Após 1 hora foram adicionados 0,6 eq. de DMFDEA, e a agitação foi mantida por mais 1 hora. O sólido amarelo foi isolado e identificado como 2,4-diamino-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5H-cromeno[2,3-b]piridina-3-carbonitrilo de partida (25 mg; 0,07 mmol; 24%), baseado no seu  $^1\text{H}$  RMN. Uma segunda

fração (24 mg) foi isolada e identificada como sendo o *N*-(4-amino-3-ciano-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridin-2-il)-*N,N*-dimetilformimidamida pretendido, assim como o 2,4-diamino-9-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-5*H*-cromeno[2,3-*b*]piridina-3-carbonitrilo de partida, na proporção de 2:1, com base no seu espectro de RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ).

$^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,01 (s; 3H;  $\text{H}_5$ ); 2,15-2,22 (m; 8H;  $\text{H}_2$  e  $\text{H}_3$ ); 2,30 (s; 3H;  $\text{CH}_3$ ); 3,02 (s; 3H;  $\text{H}_{4'}$ ); 3,11 (s; 3H;  $\text{H}_{4''}$ ); 4,98 (s; 1H;  $\text{H}_5$ ); 6,51 (s; 2H;  $\text{NH}_2$ ); 7,03-7,07 (m; 2H;  $\text{H}_6$  e  $\text{H}_7$ ); 7,17-7,22 (m; 1H;  $\text{H}_8$ ); 8,48 (s; 1H;  $\text{H}_{2'}$ ).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  (DMSO- $d_6$ ): 15,86 ( $\text{CH}_3$ ); 34,44 ( $\text{C}_{4'}$ ); 40,45 ( $\text{C}_{4''}$ ); 45,73 ( $\text{C}_5$ ); 54,86 ( $\text{C}_5$ ); 55,05 ( $\text{C}_2$  e  $\text{C}_3$ ); 82,12 ( $\text{C}_3$ ); 92,11 ( $\text{C}_{4a}$ ); 116,98 (CN); 117,02 ( $\text{C}_{5a}$ ); 122,61 ( $\text{C}_7$ ); 124,88 ( $\text{C}_9$ ); 127,40 ( $\text{C}_6$ ); 130,12 ( $\text{C}_8$ ); 150,33 ( $\text{C}_{9a}$ ); 156,34 ( $\text{C}_{2'}$ ); 158,04 ( $\text{C}_{10a}$ ); 159,99 ( $\text{C}_4$ ); 163,03 ( $\text{C}_2$ ).

### Síntese de compostos carbonílicos $\alpha,\beta$ -insaturados a partir de salicilaldeídos

#### Síntese de (*E*)-4-(2-hidroxi-3-metoxifenil)but-3-en-2-ona 2.15



A uma solução de *o*-vanilina (100 mg; 0,66 mmol) em solução aquosa de NaOH 2M (2 mL) adicionou-se a acetona (3 mL), resultando numa solução amarela que foi colocada a agitar à temperatura ambiente. Por TLC, deu-se por terminada a reação ao fim de 28 horas. A solução foi concentrada a pressão reduzida e, de seguida, adicionou-se HCl 4M até se iniciar a formação de um precipitado. A suspensão

amarela resultante foi colocada no banho de ultrassons para desagregar o sólido, filtrada sob vácuo, lavada com água e éter etílico frio e identificada como (*E*)-4-(2-hidroxi-3-metoxifenil)but-3-en-2-ona (57 mg; 0,30 mmol; 45%), com base no seu espectro de RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ). bandas representativas no espectro de IV (Nujol),  $\nu_{\text{max}}$ : 3446, 1617  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  RMN,  $\delta_{\text{H}}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 2,29 (s; 3H;  $\text{CH}_3$ ); 3,81 (s; 3H;  $\text{OCH}_3$ ); 6,78 (d; 1H;  $J = 16,4\text{Hz}$ ;  $\text{H}_3$ ); 6,79 (t; 1H;  $J = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_5$ ); 7,00 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_4$ ); 7,19 (dd; 1H;  $J_1 = 1,2\text{Hz}$ ;  $J_2 = 8,0\text{Hz}$ ;  $\text{H}_6$ ); 7,79 (d; 1H;  $J = 16,4\text{Hz}$ ;  $\text{H}_4$ ); 9,41 (s; 1H; OH).  $^{13}\text{C}$  RMN,  $\delta_{\text{C}}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 27,41 ( $\text{CH}_3$ ); 55,96 ( $\text{OCH}_3$ ); 113,41 ( $\text{C}_4$ ); 119,17 ( $\text{C}_5$ ); 119,72 ( $\text{C}_6$ ); 121,19 ( $\text{C}_1$ ); 126,85 ( $\text{C}_3$ ); 138,18 ( $\text{C}_4$ ); 146,19 ( $\text{C}_2$ ); 147,98 ( $\text{C}_3$ ); 198,12 ( $\text{C}_2$ ).

### 3.3 Estudos biológicos

#### Linhas celulares e condições de cultura

Duas linhas celulares de cancro da mama humano Hs578T (subtipo basal) e MCF-7 (subtipo luminal) foram obtidas da ATCC (American Type Culture Collection). Às duas linhas celulares de cancro foram adicionadas meio de cultura “Dulbecco’s modified Eagle medium”, 4.5g/l glucose (DMEM, Gibco) suplementado com 10% de soro bovino fetal (FBS, Gibco) e 1% de solução antibiótica (Penicilina-Estreptomicina, Gibco). As células foram mantidas numa incubadora a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. Para todos os ensaios, foi utilizado como controlo, DMSO (Dimetil Sulfóxido, Sigma-Aldrich).

Em todos os ensaios, as células sub-confluentes foram recolhidas lavando suavemente os frascos com solução salina tamponada com fosfato (PBS 1x) e depois separadas com tripsina (TrypLE™ Express, Gibco) a 37°C. Para inactivar a tripsina adicionou-se DMEM com 10% de FBS e as células foram recolhidas após centrifugação durante 5 minutos a 9000 rpm. As células foram suspensas em meio novo e foram recolhidos 10µL de suspensão celular, aos quais foram adicionados 20 µL de azul de tripano (Solução azul de Tripano, 0,4%, Gibco). As células foram contadas numa câmara de Neubauer para posterior cálculo da densidade.

#### Ensaio de viabilidade celular - Ensaio de sulforodamina B

Para calcular o valor de IC<sub>50</sub> as células foram adicionadas em placas de cultura de 96 poços a 3000 células por 100 µL de densidade por poço (MCF-7 e Hs578T) e deixadas a aderir durante 18 a 20 horas (durante a noite) em DMEM completo (MCF-7 e Hs578T). As células foram então tratadas com 7 concentrações diferentes (de 0,1 a 60 µM ou 0,001 a 40 µM) de compostos em meio com 0,5% de FBS e incubadas durante 72 horas. Os controlos foram realizados com 0,3% de DMSO. O efeito citotóxico do composto foi avaliado pelo ensaio sulforodamina B (SRB, TOX-6, Sigma-Aldrich). Após a incubação das células com as diferentes concentrações do composto, o meio de cultura foi removido e as células foram fixadas com 10% de ácido tricloroacético (TCA) frio durante 1 hora a 4°C. As placas foram enxaguadas três vezes com água destilada para eliminar o excesso de TCA e depois foram secas durante a noite à temperatura ambiente. As células foram coradas com 0,4% de solução de sulforodamina B durante 30 minutos e, após este período, as placas foram novamente lavadas 3 vezes, com 1% de ácido acético até o corante não incorporado ser totalmente removido. Após secagem durante a noite, a Sulforodamina B fixada foi solubilizada utilizando uma solução Tris Base a 10 mM, agitando durante 20 a 30 minutos à temperatura ambiente até se obter uma cor homogênea. A medição espectrofotométrica da absorvância foi lida a 490 nm (Tecan Infinite M200).

Os resultados foram expressos como percentagem em relação ao controlo. A concentração de cada composto que diminuiu o número de células viáveis para 50% ( $IC_{50}$ ) em relação ao controlo foi calculada utilizando o software GraphPad Prism 6. Os valores de  $IC_{50}$  foram obtidos a partir de, pelo menos, três experiências independentes, cada uma em triplicado, aplicando uma regressão não linear sigmoide dose-resposta (declive variável), após transformação logarítmica.

#### **Análise estatística**

Todos os gráficos e análises estatísticas foram realizados com o software GraphPad Prism 6. A significância estatística foi avaliada pelo teste  $t$  e os resultados são apresentados como médias normalizadas  $\pm$  DP.



## Capítulo 4

---

### Bibliografía





## 4.1 Bibliografia

- [1] Curini, M.; Cravotto, G.; Epifano, F.; Giannone, G., *Curr. Med. Chem.* **2008**, *13*, 199-222.
- [2] O’Kennedy, P.; Thornes, R. D., *Eds. In Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action*, J. Wiley & Sons: Chichester, 1997.
- [3] Yu, D.; Suzuki, M.; Xie, L.; Morris-Natschke, S. L.; Lee, K.-H., *Med. Res. Rev.* **2003**, *23*, 322-345.
- [4] Khan, K. M.; Saify, Z. S.; Khan, M. Z.; Choudhary, M. I.; Perveen, S.; Chohan, Z. H.; Supuran, C. T.; Zia-Ullah; Atta-Ur-Rahman. J, *Enz. Inhib. Med. Chem.* **2004**, *19*, 373-379.
- [5] Abd El-Aziz, A. S.; El-Agrody, A. M.; Bedair, A. H.; Corkery, T. C.; Ata, A., *Heterocycles* **2004**, *63*, 1793-1812.
- [6] Borges, F.; Roleira, F.; Milhazes, N.; Santana, L.; Uriarte, E., *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 887-916.
- [7] Chimenti, F.; Bizzarri, B.; Bolasco, A.; Secci, D.; Chimenti, P.; Carradori, S.; Granese, A.; Rivanera, D.; Lilli, D.; Scaltrito, M. M.; Brenciaglia, M. I., *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 208-212.
- [8] Kulkarni, M. V.; Kulkarni, G. M.; Lin, C. H.; Sun, C. M., *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 2795-2818.
- [9] Aridoss, G.; Zhou, B.; Hermanson, D.L.; Bleeker N.P.; Xing, C., *J. Med Chem.* **2012**, *55*, 5566-5581.
- [10] Puppala, M.; Zhao, X.; Casemore, D.; et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 1292-1297
- [11] Das, S.G.; Srinivasan, B.; Hermanson, D.L.; et al., *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5937-5948.
- [12] Pratap, R.; Ram V. J., *Chem. Rev.* **2014**, *114* (20), 10476–10526.
- [13] Volmajer, J.; Toplak, R.; Leban, I.; Le Marechal A. M., *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7012–7021.
- [14] Schiemenz, G., *Chem. Ber.* **1962**, *95*, 483-486.
- [15] Woods, L.; Sapp, J., *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 312-313.
- [16] Sakurai, A.; Motomura, Y.; Midorikawa, H., *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 1523-1526.
- [17] O’Callaghan, C.; McMurry, T.; O’Brien, J., *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1995**, *1*, 417-420.
- [18] Fringuelli, F.; Piermatti, O.; Pizzo, F., *Synthesis* **2003**, *15*, 2331-2334.
- [19] Elina Marinho, Tese de Douturamento – Síntese de moléculas contendo a unidade de piperazina como potenciais agentes antipsicóticos, Universidade do Minho, Departamento de Química, 2015
- [20] M. Costa, F. Areias, L. Abrunhosa, A. Venâncio, F. Proença, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 1954-1962.